UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA APLICADA À MEDICINA E BIOLOGIA

**“Estudos Dosimétricos de Tecidos Duros e Alimentos por Ressonância
Paramagnética Eletrônica”**

Sérgio Jacintho Leonor

RIBEIRÃO PRETO -SP

2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA APLICADA À MEDICINA E BIOLOGIA

**“Estudos Dosimétricos de Tecidos Duros e Alimentos por Ressonância
Paramagnética Eletrônica”**

Sérgio Jacintho Leonor

Tese submetida ao departamento de Física da Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como
parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em
Ciências, Área: Física Aplicada à Medicina e Biologia

Orientador: *Prof. Dr. Oswaldo Baffa Filho*

RIBEIRÃO PRETO -SP

2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE DOCUMENTO, POR
MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA,
DESDE QUE CITADA A FONTE.

83 p. Leonor, S. J.
Estudos Dosimétricos de Tecidos Duros e Alimentos por Ressonância
Paramagnética Eletrônica”

Sérgio Jacintho Leonor
– Ribeirão Preto/ SP, 2012.

Orientador: Oswaldo Baffa Filho.
Tese (doutorado) – Programa de Pós-graduação em Física Aplicada
à Medicina e Biologia – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Dosimetria, Esmalte, Dente, Espectrômetro Banda-K,
Ressonância Paramagnética Eletrônica, Radiação, Goma Arábica.

Título em Inglês: Dosimetric studies Food and Hard Tissues using Electron
Paramagnetic Resonance.

Palavras-chave em Inglês: Gum Arabic; Irradiation; Dosimetry; ESR; Electron Spin Resonance
Enamel Tooth Dosimetry K-Band Spectrometer

Resumo

Leonor, S.J. **Estudos Dosimétricos de Tecidos Duros e Alimentos por Ressonância Paramagnética Eletrônica**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Este trabalho consiste no estudo e nas aplicações da dosimetria por Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE). Em uma tentativa de realizar a dosimetria retrospectiva do esmalte dentário através do menor método invasivo possível utilizamos espectrômetros de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), operando em Banda - X e Banda - K, visando determinar as condições que poderiam ser usados em casos de exposições acidentais. Primeiro, um pequeno prisma de esmalte foi removido e um almofariz de ágata foi utilizado para triturar este prisma até que as partículas atinjam um diâmetro de cerca de 0,5 mm. Este processo de extração do esmalte resultou em um menor sinal de artefato comparado com a extração de esmalte realizado diretamente com uma broca de abrasão diamantada. A moagem manual do esmalte não leva a qualquer sinal induzido de RPE, enquanto que o uso de uma broca diamantada mesmo em baixa velocidade aparecem rebarbas produzindo um sinal de artefato equivalente ao sinal dosimétrico induzido por uma dose de 500 mGy de radiação gama. Uma massa de 25 mg de esmalte foi removida de um dente molar previamente irradiado in vitro com uma dose de 100 mGy. Esta quantidade de esmalte foi suficiente para detectar o sinal dosimétrico em um espectrômetro de Banda - X padrão. Porém utilizando um espectrômetro de Banda - K, as massas entre 5 e 10 mg foram suficientes para obter a mesma sensibilidade. De modo geral e com as incertezas envolvidas no processo, essa e outras avaliações de dosimetria realizadas em nosso laboratório indicam que é possível o espectrômetro Banda - K estimar uma dose de 100 mGy

com precisão de 25%. Além disso, o uso da Banda - K também apresentou maior sensibilidade permitindo o uso de menor massa de amostra em comparação com Banda - X. Verificamos, o processo de restauração realizado em um dente após a extração de 25 mg de esmalte, este processo foi realizado por tratamento dentário utilizando resina fotopolimerizável que permitiu a recuperação completa do dente do ponto de vista funcional e estético mostrando que este procedimento pode ser minimamente invasivo.

Utilizando a Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) espectros de goma arábica irradiados com doses entre 0,5 e 5 kGy foram estudados. A relação linear entre a dose absorvida e as intensidades dos espectros de RPE foi observada. Espectros de RPE irradiados de goma arábica apresentaram um decaimento das concentrações relativas dos radicais livres originados pela radiação produzindo pelo menos duas espécies de radicais livres com meia-vida de 3,3 e 125,4 horas. Os resultados das simulações encontradas para estes grupos radicais foram $g_{iso} = 2,0046$; $A = 1,2$ mT e $g_x = g_y = 2,0062$, $g_z = 2,0025$. Hidratação e desidratação das amostras irradiadas de goma arábica faz com que os espectros de RPE retornem ao seu estado inicial antes da irradiação. Os resultados mostraram que a técnica de RPE pode ser usada como método simples e confiável para detectar amostras de goma arábica irradiadas com até 60 dias após irradiação inicial com doses da ordem de 5 kGy.

Palavras-chave : Dosimetria, Esmalte, Dente, Espectrômetro Banda-K,

Ressonância Paramagnética Eletrônica, Radiação, Goma Arábica.

Abstract

Leonor, S.J. **Dosimetric studies Food and Hard Tissue using Electron Paramagnetic Resonance.** Doctorate Thesis (PhD) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

In an attempt to make *in vitro* electron spin resonance (ESR) retrospective dosimetry of the tooth enamel a lesser invasive method, experiments using X-Band and K-Band were performed, aiming to determine conditions that could be used in cases of accidental exposures. First, a small prism from the enamel was removed and ground with an agate mortar and pestle until particles reach a diameter of approximately less than 0.5 mm. This enamel extraction process resulted in lower signal artifact compared with the direct enamel extraction performed with a diamond burr abrasion. The manual grinding of the enamel does not lead to any induced ESR signal artifact, whereas the use of a diamond burr at low speed produces a signal artifact equivalent to the dosimetric signal induced by a dose of 500 mGy of gamma irradiation. A mass of 25 mg of enamel was removed from a sound molar tooth previously irradiated *in vitro* with a dose of 100 mGy. This amount of enamel was enough to detect the dosimetric signal in a standard X-Band spectrometer. However using a K-Band spectrometer, samples mass between 5 and 10 mg were sufficient to obtain the same sensitivity. An overall evaluation of the uncertainties involved in the process in this and other dosimetric assessments performed at our laboratory indicates that it is possible at K-Band to estimate a 100 mGy dose with 25% accuracy. In addition, the use of K-Band also presented higher sensitivity and allowed the use of smaller sample mass in comparison with X-Band. Finally, the restoration process performed on a tooth after extraction of the 25 mg of enamel is described. This was conducted by dental treatment

using photopolymerizable resin which enabled complete recovery of the tooth from the functional and aesthetic viewpoint showing that this procedure can be minimally invasive.

Electron spin resonance (ESR) spectra of irradiated gum Arabic with doses between 0.5 to 5kGy were studied. A linear relationship between the absorbed dose and the intensities of the ESR spectra was observed. ESR spectra of irradiated gum Arabic showed a decay of relative concentrations of free radicals originated by radiation and the production of at least two species of free radicals with half-times: 3.3 and 125.4 hours. The results of spectral simulations for these radical groups were $g_{iso} = 2.0046$; $A = 1.2\text{mT}$ and $g_x = g_y = 2.0062$, $g_z = 2.0025$. Hydration and dehydration of irradiated gum Arabic returns the ESR spectrum to its initial state before irradiation. The results show that ESR can be used as simple and reliable method to detect irradiated gum Arabic up to 60 days after initial radiation with doses on the order of 5kGy.

Keywords: Gum Arabic; Irradiation; Dosimetry; ESR; Electron Spin Resonance Enamel
Tooth Dosimetry K-Band Spectrometer

Agradecimentos

Ao meu orientador e amigo, Prof. Oswaldo Baffa, pela orientação nesse trabalho e também pela paciência e confiança depositada em mim.

À Profa. Angela Kinoshita pela grande ajuda nos trabalhos, principalmente no início das medidas e manuseio dos equipamentos.

Aos técnicos de laboratório, Carlão, Lourenço e Aziane pelo apoio técnico quando necessário.

Às secretárias Nilza Marina e Inês, pela sua dedicação e eficiência.

À minha esposa e à minha família pelo apoio incondicional durante este trabalho.

ao Jorge Gomez por suas sugestões.

Aos demais colegas e amigos da pós-graduação, Tiago, André,, José, Bruno e principalmente ao Luis Carlos pela ajuda nos momentos difíceis.

Ao Capes pelo apoio financeiro.

À minha Esposa Léia e aos meus filhos, Murillo, Sérgio Filho e Anna Laura

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

Capítulo 1 – Introdução.....	1
Capítulo 2 – Fundamentação Teórica	6
2.1 Introdução Teórica.....	6
2.2 Aspectos Experimentais.....	7
2.3 Condição de Ressonância.....	8
2.4 Fator g.....	11
2.5 População de spins.....	13
2.6 Interação Hiperfina.....	14
2.7 O sinal de RSE.....	17
2.8 O Espectrômetro de RPE.....	18
Capítulo 3 – Dosimetria por Ressonância do Spin Eletrônico em Tecidos Duros.....	23
3.1 Dosimetria por Ressonância do Spin Eletrônico em Dentes.....	23
3.2 Método de Doses Aditivas.....	23
3.3 A Hidroxiapatita (HAp) e o Esmalte Dental.....	26
3.4 Materiais e Métodos.....	29
3.4.1 Preparo do Esmalte Dental.....	29
3.4.2 Obtenção dos Parâmetros de Operação do Espectrômetro Jeol - FA	
200 Banda X	32
3.4.2.1 Potência de Micro-ondas.....	32
3.4.2.2 Amplitude de Modulação.....	33

3.4.3 Simulação dos Espectros	36
3.5 Resultados e Discussões.....	41
Capítulo 4 - Dosimetria por Ressonância do Spin Eletrônico em Alimentos	53
4.1 Dosimetria por Ressonância do Spin Eletrônico em Goma Arábica.....	53
4.2 Materiais e métodos	57
4.2.1 Irradiação das amostras.....	57
4.2.2 Medidas de RPE.....	58
4.2.2.1 Medidas de RPE no Espectrômetro Jeol-FA 200 Banda X.....	58
4.3 Resultados e Discussões.....	59
4.3.1 Intensidade do Sinal de RPE em Função da Dose.....	59
4.3.2 Decaimento do Sinal de RPE em Função do Tempo.....	62
4.3.3 Composição e Estrutura.....	65
Capítulo 5 – Conclusões.....	69
Referências Bibliográficas.....	71
Apêndices A.....	82
A.1. Rotinas utilizadas para o Programa de simulação do espectros.....	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Modelo vetorial de um elétron em um campo magnético.....	9
Figura 2.2 - Espectro para diferentes simetrias de g.....	12
Figura 2.3 – Diagrama dos níveis de energia de um elétron interagindo com núcleo.....	17

Figura 2.4 - Desenho esquemático de um espectrômetro de banda X.....	20
Figura 2.5- Gráfico mostrando a curva de absorção do tipo Gaussiana.....	21
Figura 2.6- Gráfico mostrando a curva de absorção do tipo Lorentziana.....	22
Figura 3.1 – Figura mostrando a variação do sinal de RPE	25
Figura 3.2 – Figura exemplificando o método das doses aditivas	25
Figura 3.3 – Desenho mostrando um corte transversal de um dente humano.....	28
Figura 3.4 – A Figura mostra A) as brocas diamantadas de alta rotação.....	30
Figura 3.5 – Fotografia do equipamento de radioterapia do Hospital da FMRP	32
Figura 3.6 – Gráfico da amplitude de RPE em função da raiz quadrada da potência	33
Figura 3.7 – Largura do sinal em função da amplitude de modulação para.....	34
Figura 3.8 – Fotografia do A) espectrômetro JEOL FA-200 Banda-X	36
Figura 3.9 – A figura mostra os espectros simulado, experimental, componente	40
Figura 3.10 – A figura mostra os espectros, experimental utilizando o Origin 8.0.....	40
Figura 3.11 – Espectros de RPE experimental e simulado em Banda-X	42
Figura 3.12 – espectro RPE Experimental e Simulado em Banda-X esmalte	44
Figura 3.13 – Banda-K espectro de RPE de 10 mg do esmalte dentário	46
Figura 3.14 –) Espectros em Banda-X e Banda-K do esmalte	48
Figura 3.15 – Procedimento clínico para restaurar um dente usado na reconstrução.....	51
Figura 3.16 – Espectro de RPE em Banda-X, de 25 mg de esmalte irradiado	52
Figura 4.1 – A flor de acácia. Árvores que produzem a legítima seiva que recebe	53
Figura 4.2 – Região onde está localizado o habitat natural da goma arábica	54
Figura 4.3 – Sinal de RSE da goma arábica com diferentes doses.....	60
Figura 4.4 – . A figura mostra a intensidade dos espectros de ESR, ID_{RPE}	60

Figura 4.5 – Sinais de RPE de goma arábica em diferentes tempos após	61
Figura 4.6 – Decaimento temporal das concentrações relativas (C_{REL})	63
Figura 4.7 – Espectros de RPE simulados. A) Espectro de RPE em 1 horar,	64
Figura 4.8 – O modelo, “flor acácia”, representa a estrutura ramificada e compacta	66
Figura 4.8 – Comparação entre os espectros de RPE irradiado e hidratado.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Parâmetros utilizados para aquisição dos espectros de RPE.....	34
Tabela 4.1 – Parâmetros utilizados no espectrômetro JEOL FA-200 Banda-X	58
Tabela 4.3 – Composição Média da Goma Arábica.....	66

Lista de Abreviações e Símbolos

HAp - Hidroxiapatita

RPE - Ressonância Paramagnética Eletrônica

D - Dose acumulada

1Gy = 1 J/Kg

g - fator de desdobramento espectroscópico, $g=2,00023$ para o elétron livre

k - Constante de Boltzmann

Capítulo 1- Introdução

A Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) é uma técnica espectroscópica que tem sido amplamente utilizada nas últimas décadas no estudo dosimétrico das radiações ionizantes, bem como na solução de problemas ligados as mais diversas áreas da ciência, desde sua descoberta por Zavoisky em 1944. Recentemente, sua aplicação estendeu-se ao estudo dos efeitos das radiações em alimentos irradiados industrialmente, à dosimetria retrospectiva em casos de acidente, à dosimetria de referência e na datação geológica e arqueológica onde ossos, dentes, moluscos, minerais, dentre outros materiais, são utilizados como indicadores da idade do material. Os primeiros estudos sobre tecidos duros humanos irradiados feitos por (BRADY et al., 1968; MASCARENHAS et al., 1973), desde então o uso desta técnica em dosimetria retrospectiva tem se tornado mais e mais viável. Atualmente, o limite de detecção de dose é de cerca de 100 mGy usando espectrômetros de RPE típicos e massa de esmalte entre 100 e 200 mg (FATTIBENE E CALLENS, 2010). Radicais livres estáveis gerados na parte mineral quando a radiação ionizante interage com esses tecidos podem ser quantificados pela técnica de RPE, fornecendo informações sobre a dose absorvida. Esmalte dos dentes é o tecido o mais mineralizado do corpo. Seu principal mineral é hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ (HAp), que é um fosfato de cálcio cristalino e constituído aproximadamente 95% de sua massa. Os 5% restantes consistem de proteínas, principalmente a amelogenina e enamelina, que estão relacionadas com o desenvolvimento do esmalte, servindo como uma base de apoio. O esmalte varia de espessura sobre a superfície do dente e é mais grosso nas bordas possuindo cerca de 2,5 mm, e mais fino na base, que é clinicamente visto como a junção entre o esmalte e o cimento.

A hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ (HAp), durante seu processo de mineralização íons carbonato, que são impurezas no cristal, com concentrações variando de 2 a 6%, são incorporados à rede cristalina podendo substituir a hidroxila OH^- (sítio tipo A), ou o fosfato PO_4^{3-} (sítio tipo

B). Durante a absorção de energia ionizante pela rede cristalina da (HAp), o íon carbonato captura um elétron livre na rede cristalina formando um centro paramagnético (IKEYA, 1996; CALLENS et al., 1987). O principal radical gerado pela radiação ionizante na parte mineral dos tecidos duros na região de $g = 2$ é atribuído a radicais CO_2^- decorrentes da presença de impurezas de carbonato CO_3^{2-} (CALLENS et al., 2002). O sinal deste radical vem sendo utilizado como indicador de dose absorvida (sinal dosimétrico produzido pela radiação em tecidos calcificados).

Alguns desses radicais paramagnéticos produzidos pela radiação ionizante podem possuir uma estabilidade muito grande à temperatura ambiente podendo chegar até 10^7 anos, o que possibilita sua utilização em datação geológica e arqueológica, (IKEYA, 1993; GRUN, 1987).

A não destrutibilidade das informações durante a medida, ou seja, os centros paramagnéticos não são destruídos, isto possibilita a repetição das medidas, bem como a utilização dos dosímetros para fazer dosimetria de doses aditivas, muito utilizada em tratamentos radioterápicos, onde a dose total é, na maioria dos casos fracionada em várias seções de radioterapia. Outra vantagem é a grande variedade de materiais indicadores de dose, tais como a alanina, os carbonatos, o quartzo, as bioapatitas de ossos e dentes, polímeros, alimentos como açúcar (DA COSTA et al., 2005), adoçantes (KINOSHITA et al., 2010), e outros materiais como óculos (BASSINET et al., 2010), e unhas (TROMPIER et al., 2007; TROMPIER et al., 2009).

Existem outros métodos para a dosimetria in vivo, baseados na análise cromossômica (KINOSHITA et al., 2003; FENECH, 2010; CHEN et al., 2010). Eles são sensíveis, mas geralmente exigem um tempo significativo antes que os resultados sejam obtidos, mas não são adequados para situações de emergência. Assim, a dosimetria física continua sendo um dos melhores métodos, uma vez que proporciona resultados confiáveis em um prazo razoável. Felizmente, ainda não tivemos um evento nuclear que pudesse exigir uma avaliação de dose em um grande

número de pessoas, mas se tal evento ocorrer, dosimetria de RPE do esmalte dentário será provavelmente o método de escolhido. Embora a dosimetria de RPE use esmalte do dente, e este seja um bom método para a reconstrução da dose em casos de exposição acidentais à radiação ionizante, o método de extração do esmalte é uma questão a ser debatida. Assim, uma condição desejável in vitro para a reconstrução da dose de RPE do esmalte dentário, seria a extração da menor massa de esmalte possível, de modo a reconstruir a dose com precisão aceitável e produzir o menor dano ao dente para uma possível restauração. No entanto, um dos principais problemas inerentes à utilização de pequenas quantidades de massa é a existência de sinais de artefato no espectro de RPE induzidos por processos mecânicos empregados durante a extração do esmalte. A importância de evitar os artefatos gerados durante o procedimento de moagem já foi estabelecida em várias publicações resumidas no protocolo da AIEA (IAEA, 2002). Neste trabalho, um estudo dos sinais produzidos por artefatos de RPE foi realizado utilizando-se dois processos diferentes de extração de esmalte, a fim de determinar qual método resultará no menor sinal de artefato. Uma vez que o melhor método para a extração de esmalte foi estabelecido, experimentos usando Banda-X e Banda-K foram realizados para detectar 100 mGy de dose, onde 25 mg de esmalte foi o suficiente para o espectrômetro Banda-X e 10 mg foi suficiente para o Banda-K. Finalmente, após extração de 25 mg de esmalte dentário um tratamento dentário para a recuperação completa do dente foi descrito, indicando que a quantidade de massa extraída provoca danos mínimos ao dente.

Na segunda parte deste trabalho estudamos a Goma arábica, também chamada de Goma Acácia, é uma exsudação seca obtida dos caules e ramos de árvores de acácia pertencentes à família Leguminosae (FAO/WHO, 1986). É constituída principalmente de polissacarídeos de alta massa molecular e de cálcio, magnésio e sais de potássio, que, após a hidrólise seus principais componentes são arabinose, galactose, ramnose e ácido glucurônico (ANDERSON E STODDART,

1966; CHURMS, MERRIFIELD E STEPHEN, 1983; FAO/WHO, 1986; ISLAM, et al., 1997; OSMAN, et al., 1993; STREET E ANDERSON, 1983). Essa goma é amplamente utilizada na indústria alimentar, farmacêutica e cosmética, por exemplo, na indústria de alimentos a goma arábica é usada em produtos de confeitaria, pastelaria, bebidas e produtos embalados (ANDERSON E DE PINTO, 1980; ARÁMBULA et al., 1999; JOSELEAU E ULLMANN, 1990; KEOGH E O'KENNEDY, 1998; MBUNA E MHINZI, 2003; PARAMITA, et al., 2010; RIGHETTO E NETTO, 2006). Como as áreas de crescimento das árvores de acácia tem um clima favorável para o crescimento de microorganismos, a descontaminação da goma arábica é feita, normalmente, usando um tratamento químico com dibrometo de etileno, que é extremamente prejudicial à camada de ozônio, a sua comercialização foi proibida em vários países, e sua fabricação será banida até 2015 em todo o mundo (ANDERSON, 1983). Em busca de métodos alternativos para a descontaminação de alimentos e produtos médicos com goma arábica, Zaied *et al* desenvolveram um estudo completo dos efeitos da descontaminação comercial da goma arábica com raios- γ e feixes de elétrons, através da análise microbiológica, espectroscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura e medidas reológicas e de cor (ANDERSON, 1983). Neste estudo, foi demonstrado que a goma arábica utilizada em indústrias alimentícias e médicas podem ser efetivamente descontaminados por irradiação sem efeitos adversos sobre as propriedades físicas dos produtos finais de uma dose ideal de alguns kGy (ZAIED et al.). Portanto, há necessidade de um método adequado de medição e controle de doses de irradiação de produtos com goma arábica descontaminados por radiações. Desde a década de 1980 o tratamento de radiação, nos alimentos é utilizado para reduzir as perdas por deterioração e melhorar a qualidade de higiene. Assim, a radiação ionizante tem sido usada com eficácia em inúmeras aplicações na indústria alimentícia e médica: esterilização de produtos médicos, hospitalares e de resíduos de tratamento de esgoto, na modificação de algumas propriedades de polímeros, e a irradiação de alimentos (IAEA, 1998;

DEELEY, 2004). A fim de facilitar o comércio de alimentos irradiados, existe o interesse em utilizar métodos simples e confiáveis para detectar alimentos tratados por irradiação. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), é um dos principais métodos com ampla aceitação em muitos laboratórios de calibração como um método padrão para dosimetria de altas doses de radiação como aqueles usados em aplicações de processamento industrial de radiação (ASTM, 1997; FARRAR IV, 2000; McLAUGHLIN E DESROSIERS, 1995; MEHTA, 1996; MIYAGUSKU et al., 2007). A radiação produzida forma radicais livres na matéria, alguns dos quais são estáveis, pois podem ser capturados por impurezas ou defeitos inerentes. Assim, esses radicais estáveis ou quase estáveis podem ser detectados por um espectrômetro de RPE, onde a intensidade do sinal de absorção resultante é proporcional à dose de radiação absorvida. Neste contexto, o presente trabalho reporta um estudo detalhado dos sinais de RPE da goma arábica irradiados para mostrar a viabilidade do uso da técnica de RPE como um método de medição efetiva das doses de irradiação em goma arábica.

Capítulo 2 – Fundamentação Teórica.

2.1. Introdução Teórica.

O spin eletrônico que constitui a base desse estudo refere-se (classicamente) à rotação do elétron sobre o seu próprio eixo. Os elétrons podem ser considerados como uma carga elétrica negativa girando ao redor do seu eixo, e como se sabe carga em movimento produz campo magnético, equivalente a um momento magnético intrínseco (μ_e); é como se o elétron atuasse como uma pequena barra magnética, com pólos norte e sul. Quando os elétrons estão emparelhados em um átomo ou molécula, os spins são opostos e os momentos magnéticos associados também são opostos; isto efetivamente cancela as propriedades magnéticas. Por esta razão é que a maioria das substâncias químicas que contêm somente pares de elétrons não têm momentos magnéticos, mas em diversos íons e nos radicais livres os elétrons não estão todos emparelhados o que proporciona um momento magnético eletrônico resultante, tornando o íon ou molécula paramagnética (IKEYA, 1993; WEIL, 1994; SWARTZ, 1972).

Da mesma maneira os íons que possuem elétrons desemparelhados no seu último subnível, possuem momento magnético resultante, que o torna paramagnético.

A Ressonância do Spin Eletrônico (RPE) ou Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) tira vantagens do fato de que somente os íons e moléculas paramagnéticos nas amostras podem interagir com um campo magnético externo aplicado. Assim as pequenas populações de elétrons desemparelhados e de impurezas paramagnéticas, podem ser detectadas e examinadas nas amostras químicas, minerais e biológicas, compostas predominantemente de outras substâncias; esta é uma vantagem que poucas técnicas espectroscópicas oferecem.

2.2. Aspectos Experimentais

A RPE, em essência, lida com a separação entre os *níveis Zeeman de energia* (Figura 2.1) e as transições que podem ocorrer se uma dada substância paramagnética estiver na presença de um campo magnético e, ao mesmo tempo, exposta a uma radiação eletromagnética.

Existem comercialmente vários espectrômetros o de banda X opera com frequência de microondas de aproximadamente 9.5 GHz , o de Banda K, 24 GHz o de Banda Q, 35 GHz, de Banda L (1.5 GHz), Banda S(3.2 GHz) e o de Banda W (95 GHz). Utilizamos as frequências mais altas quando queremos uma melhor resolução do fator g e as frequências baixas quando a resolução da interação hiperfina é importante e quando a presença de água impede o uso de frequências mais altas.

A fonte de emissão de microondas é usualmente uma válvula chamada Klystron que emite uma alta frequência monocromática com comprimentos de onda da ordem de centímetros (3,2; 1,2 e 0,8 cm, denominadas respectivamente banda-X, banda-K e banda-Q) em espectrômetros mais modernos a fonte de emissão é um diodo Gunn. A onda eletromagnética propaga-se através de uma *guia de onda* até uma *cavidade ressonante* onde existe um campo magnético estático produzido pelo eletromagneto; há também um campo de perturbação produzido na cavidade que permite a modulação do sinal de absorção. A temperatura da amostra pode ser controlada através de um sistema de *fluxo de nitrogênio*. A medida e controle do campo magnético gerado pelo eletromagneto é feita por uma ponta Hall, e a medida da absorção das microondas pelas moléculas paramagnéticas presentes na amostra é feita usando-se um *diodo detector* e amplificador do sinal de ressonância. Por último os espectros e parâmetros são registrados em um

registrador ou gravados em um computador, com um sistema operacional próprio para manipulação e análise de um ou vários espectros.

2.3. Condição de Ressonância

Na ausência do campo magnético externo os spins eletrônicos possuem uma orientação completamente aleatória e os níveis de energia de spin estão degenerados. Aplicando-se um campo magnético externo $\vec{H}_0$, sobre a amostra, surgem os *níveis de energia de Zeeman*, com desdobramentos proporcionais ao campo, dividindo a população original de spins em duas classes: (a) spins no sentido oposto do campo magnético aplicado (estado de menor energia) $m_s = -1/2$, e (b) spins no mesmo sentido do campo aplicado (estado de maior energia) $m_s = +1/2$.

E o desdobramento Zeeman é representado pela energia (SWARTZ, 1972):

$$E_{zeeman} = -\vec{\mu}_e \cdot \vec{H}_0 \quad (2.1)$$

que depende do campo magnético externo $\vec{H}_0$ e do momento magnético associado ao elétron $\vec{\mu}_e$

que é dado por:

$$\mu_e = -g_e \beta_e m_s = -\gamma \hbar m_s \quad (2.2)$$

Onde g é o fator de desdobramento espectroscópico (para o elétron livre $g_e = 2,0023$), $\beta_e = eh/4\pi m_e c = 9,27408 \cdot 10^{-28} \text{ J/G}$ é o magneton de Bohr, h é a constante de Planck, γ é o fator giromagnético, m_e é a massa do elétron e c é a velocidade da luz.

Então a equação (2.1) torna-se:

$$E_{Zeeman} = g_e \beta_e H_0 m_s \quad (2.3)$$

Usando modelos vetoriais podemos representar o comportamento de um elétron na presença de um campo magnético e também obter as energias dos subníveis de spin (Fig. 2.1). A componente do vetor de spin $\mathbf{S}$, pode assumir somente valores $S_z = m_s h$, onde m_s é o número quântico de spin. Para um elétron em que $S = 1/2$, o número de valores que m_s pode assumir é igual a $(2S + 1) = 2$ e os possíveis números quânticos do elétron serão $m_s = + 1/2$ e $m_s = - 1/2$. Ou seja, a energia dos elétrons com $m_s = + 1/2$ é aumentada, enquanto a dos elétrons com $m_s = - 1/2$ é diminuída pela aplicação do campo externo (Fig. 2.1 b-c).

Figura 2.1 Modelo vetorial de um elétron em um campo magnético e desdobramento dos subníveis de spin. (a) precessão do dipolo magnético μ_s (elétron com spin S) em torno do campo magnético externo H ; (b) quantização do momento magnético dos elétrons: $m_s = + 1/2$ e $m_s = - 1/2$ são as duas possíveis magnitudes do número quântico magnético para o número de spin $S = 1/2$; (c) formação de dois subníveis ou estados de energia de spin para o caso do spin $S = 1/2$.

Uma amostra paramagnética pode ser caracterizada pelo seu momento magnético, que é gerado por elétrons desemparelhados. Na ausência do campo magnético externo a orientação dos momentos magnéticos na amostra paramagnética é completamente aleatória, aplicando-se um campo magnético externo nesta amostra podemos estabelecer uma direção preferencial para seus spins, que por convenção chamaremos de eixo Z (Fig 2.1-a), onde este campo externo divide a população em dois níveis, um com estados de menor energia e outro com maior energia (Fig 2.1-c). A transição entre estes dois estados de energia ocorre quando a diferença entre estes dois estados de energia for igual ao quantum de energia $h\nu$ (IKEYA, 1993) (Fig. 2.1-c).

Essa diferença de energia (Fig. 2.1-c) entre os dois estados é dada por:

$$\Delta E = g_e \beta_e H_r \quad (2.4)$$

onde H_r é o campo magnético de ressonância, e a condição de ressonância ocorrerá quando a diferença entre dois níveis de energia for igual a energia quântica $h\nu$, isto é,

$$g_e \beta_e H_r = h\nu \quad (2.5)$$

sendo ν a frequência da microonda em GHz.

Considerando um sistema com apenas um elétron desemparelhado e submetido a um campo magnético externo H_0 , na direção z, a Hamiltoniana da interação do spin eletrônico com o campo externo, associada a energia Zeeman é dada por:

$$\mathcal{H}_{\text{zeeman}} = g\beta HS_Z \quad (2.6)$$

Alguns íons paramagnéticos possuem o número quântico total de spin maior que 1/2 ($S \geq 1$). Nestes casos m_s ou S_Z possui $2S + 1$ valores, sendo eles: $S, S - 1, \dots, -S + 1, -S$ (quantização

do spin eletrônico). A condição de ressonância poderá então ser satisfeita 2S vezes, implicando em 2S sinais (valores de campo de ressonância) de absorção de microondas pelos elétrons desemparelhados (IKEYA, 1993).

2.4. O fator g

O fator g é característico para cada tipo de composto (para o elétron livre $g = 2,0032$).

Este valor pode ser obtido pela equação:

$$g_e = \frac{h\nu}{\beta_e H_r} = 714,4775067 \frac{\nu(GHz)}{H_r(Gauss)} \quad (2.7)$$

Na descrição acima o experimento de RPE foi observado apenas em uma molécula em uma direção no campo magnético.

O desvio no valor do fator g medido com relação ao fator g do elétron livre surge do acoplamento spin - orbita entre o estado fundamental e o excitado. Uma vez que os orbitais são orientados na molécula, a magnitude desta resultante é dependente da direção, ou seja, anisotrópica.

Em solução de baixa viscosidade ou pó de cristais a anisotropia passa a ser a média, neste caso dizemos que estes compostos se tornaram isotrópicos por fatores físicos não moleculares, e nesta situação a isotropia é obtida devido a orientação randômica, seja das moléculas no líquido ou das partículas de pó no cristal. Todavia, esta não é a situação quando todas as moléculas paramagnéticas estão fixas, como em um cristal. Desta forma, se a posição de um cristal for mudada no espectrômetro, o valor de g deverá variar, devido à anisotropia. Para cada molécula

paramagnética existe um único sistema de eixos, denominado “sistema de eixo principal”. Os fatores g medidos ao longo desses eixos são chamados de g_x , g_y e g_z .

A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** mostra a absorção e o espectro de RPE para três diferentes classes de anisotropia. Na primeira classe, denominada isotrópico, todos os fatores g principais são iguais. Na segunda classe, denominada axial, existe um único eixo que difere dos outros dois ($g_x = g_y \neq g_z$). A última classe, denominada ortorrômbica, ocorre quando todos os fatores g são diferentes.

Figura 2.2 Espectro para diferentes simetrias de g para o caso de sistemas paramagnéticos com $S=1/2$. Figura retirada de (HAGEN WR., 2008.)

2.5. População de Spins

Os dois níveis de energia da Fig. 2.1-c estão populados de acordo com a distribuição de Boltzman. Se representarmos por E_α e N_α a energia e população de spins do nível superior, E_β e N_β no caso do nível inferior, a relação entre as populações destes níveis é dada por (SWARTZ, 1972):

$$N_\alpha/N_\beta = \exp [-(E_\alpha - E_\beta)/kT] \quad (2.8)$$

onde:

$$\Delta E = E_\alpha - E_\beta = g_e \beta_e H_0 \quad (2.9)$$

então a equação 2.8 se torna:

$$N_\alpha/N_\beta = \exp [-(g_e \beta_e H_0)/kT] \quad (2.10)$$

onde k é a constante de Boltzman e T a temperatura absoluta. Para temperaturas normais de aproximadamente 300 K e um campo de 3400 G, teremos $g_e \beta_e H_0 \ll kT$ então a razão $N_\alpha/N_\beta \approx 1,0015$, ou seja, há uma diferença de 15 em 10^4 spins entre os níveis (SWARTZ, 1972). Mas como N é bastante elevado nas amostras normalmente utilizadas nos experimentos de RPE, da ordem de 10^{15} spins, teremos uma diferença de população $n = N_\alpha - N_\beta \approx 1,5 \times 10^{12}$ spins, suficiente para a detecção do sinal de RPE. Para entendermos melhor este fenômeno verificamos a existência de mecanismos de transferência de energia do sistema de spins para as vizinhanças (relaxação), que permitem a rápida transferência de spins do estado $m_s = +1/2$ para o estado $m_s = -1/2$, mantendo a

diferença de população entre os estados de spins em valores suficientes para a visualização do sinal RPE.

Entre os mecanismos de relaxação destacam-se dois tipos: spin-rede e spin-spin. A relaxação spin-rede se origina da interação entre o spin eletrônico e os campos magnéticos produzidos por vibrações da rede cristalina próximas ao elétron desemparelhado. Estes campos se acoplam ao momento magnético do elétron, produzindo transições entre os estados de spin. A este processo associa-se um tempo de relaxação spin-rede, T_1 , que pelo princípio da incerteza é inversamente proporcional a largura da linha de ressonância.

A relaxação spin-spin surge da interação do spin eletrônico da espécie estudada com campos magnéticos gerados por outros spins devido a elétrons e núcleos nas vizinhanças. O tempo de relaxação, T_2 , que caracteriza este processo também é inversamente proporcional à largura de linha.

Os tempos de relaxação são característicos de cada espécie paramagnética e estão relacionados ao efeito de saturação do sinal de RPE com o aumento da potência de microondas, de forma que quanto maior o tempo de relaxação, mais rapidamente se obtém a saturação do sinal de RPE. Na análise de espectros complexos, utiliza-se a variação da intensidade das linhas de RPE com a potência de microondas para identificar linhas de ressonância pertencentes a centros paramagnéticos distintos.

2.6. Interação Hiperfina

Muitos núcleos dos íons paramagnéticos e/ou íons vizinhos ligados possuem spin, isto é, momento rotacional próprio; por causa da presença da carga no núcleo exibem, portanto, um “momento magnético”.

Na presença do momento magnético nuclear do íon paramagnético, cada linha de estrutura fina ou da interação com o campo externo, experimenta um desdobramento adicional devido à interação entre os spins eletrônicos com os spins dos núcleos vizinhos, este desdobramento é conhecido como acoplamento hiperfino. Os núcleos com spin I podem estar em $(2I+1)$ estados de spin diferentes. O spin nuclear induz assim um campo magnético local. Para núcleos com $I=1/2$, duas orientações são possíveis para o campo magnético local, ao longo da direção do campo magnético aplicado ($m_I = 1/2$), e oposta a este ($m_I = -1/2$). Ambas as orientações criam um pequeno campo adicional no sítio de localização do elétron. Com a orientação do campo local $\vec{H}_{local}$ paralela, este será adicionado ao campo externo $\vec{H}_0$, e com a orientação antiparalela, subtraído. Sendo assim a condição de ressonância será satisfeita duas vezes, resultando em um espectro com duas linhas hiperfinas. Considerando o campo local a condição de ressonância será dada por (Swartz, 1972):

$$h\nu = \beta_e g_e (H_0 + H_{local}) \quad (2.11)$$

A Hamiltoniana que descreve o acoplamento hiperfino é dada por:

$$\mathcal{H}_{hip} = -g_e \beta_e g_n \beta_n \left\{ \frac{(I \cdot S)}{r^3} - \frac{3(I \cdot r)(S \cdot r)}{r^5} - \frac{8\pi}{3} (I \cdot S) \delta(r) \right\} \quad (2.12)$$

onde, g_n e β_n são respectivamente o fator-g do núcleo e o magneton de Bohr nuclear, r é a distância entre o elétron e o núcleo, I e S são respectivamente os vetores de spin nuclear e eletrônico e $\delta(r)$ a função delta de Dirac. O primeiro e o segundo termo desta equação

descrevem a interação dipolar entre o elétron e o núcleo. O terceiro termo representa a interação de contato de Fermi.

Os dois primeiros termos da equação 2.12 podem ser escritos na forma do tensor de acoplamento hiperfino dos dois vetores de momento angular (do núcleo e do elétron) por (SWARTZ, 1972):

$$\mathcal{H}_{\text{dipolar}} = \mathbf{I} \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{S} \quad (2.13)$$

onde $\mathbf{I}$ e $\mathbf{S}$ são respectivamente os vetores de spin nuclear e eletrônico, $\mathbf{A}$ é o tensor de acoplamento hiperfino dipolar, que representa uma matriz com elementos A_{ij} :

$$A_{ij} = -g_e \beta_e g_n \beta_n \left\langle \left(r^2 \delta_{ij} - 3x_i x_j \right) / r^5 \right\rangle \quad (2.14)$$

onde o símbolo $\langle \rangle$ “bracket” representa integração sobre toda a distribuição eletrônica. O terceiro termo da Equação 2.12 descreve o caso particular do elétron no orbital s, e é conhecida como interação hiperfina isotrópica ou de contato de Fermi devido a simetria esférica deste orbital, a Hamiltoniana que descreve esta interação é dada por (SWARTZ, 1972):

$$\mathcal{H}_{\text{isotrópica}} = a \cdot \mathbf{S} \cdot \mathbf{I} \quad (2.15)$$

onde a é a constante de acoplamento isotrópico escalar dada por:

$$a = (8\pi/3) g_e \beta_e g_n \beta_n |\psi(0)|^2 \quad (2.16)$$

onde $|\psi(0)|^2$ é a probabilidade de se encontrar o elétron no núcleo.

Então podemos escrever a Hamiltoniana de acoplamento hiperfino da seguinte forma:

$$\mathcal{H}_{\text{hiperfina}} = \mathcal{H}_{\text{dipolar}} + \mathcal{H}_{\text{isotrópico}} \quad (2.17)$$

2.7. O Sinal de RPE

O sinal de RPE do radical reflete as interações entre o momento magnético do elétron desemparelhado com o campo magnético externo (interação Zeeman), e do momento magnético nuclear do nitrogênio vizinho (interação hiperfina), onde esta última produz outros desdobramentos dos níveis de energia.

Figura 2.3 Diagrama dos níveis de energia de um elétron interagindo com um núcleo de spin 1 e espectro da primeira derivada da curva de absorção; A é a constante de desdobramento hiperfino e o fator g define a posição da linha central.

O nitrogênio possui spin nuclear $I = 1$, por isso a projeção de seu momento magnético de spin ao longo do campo magnético pode assumir os valores $m_I = -1, 0, 1$. Estas projeções do momento funcionam como pequenos campos locais que se somam com o campo externo fazendo desdobrar os níveis de Zeeman do elétron em três níveis (Fig. 2.3), para $m_I = +1$ há uma contribuição favorável de campo e o desdobramento fica um pouco maior, quando $m_I = 0$ o desdobramento devido ao elétron fica inalterado, e quando $m_I = -1$ o campo de spin nuclear está contrário ao campo externo e o desdobramento é menor. Assim a ressonância ocorre para três valores de campo, satisfazendo a regra de seleção $\Delta m_I = 0$. Estas transições ocorrem com igual probabilidade de baixo para cima e de cima para baixo, sendo que a absorção de microonda só ocorre pelo fato do nível mais baixo ser ligeiramente mais populado. Como a detecção do RPE é sensível à fase, é mais conveniente o registro da primeira derivada da curva de absorção eletrônica, dando um espectro de três linhas de ressonância com no caso do radical representado na (Fig. 2.3). O ruído não pode ser modulado e o sinal de RPE sendo modulado em 100 KHz, fica livre dos ruídos que predominam em frequências baixas.

2.8. O Espectrômetro de RPE

O espectrômetro de RPE consiste basicamente de 4 unidades: unidade de campo magnético, unidade de micro-ondas, a cavidade ressonante e a unidade de detecção, modulação, amplificação e registro de sinal (WERTS J.E.; BOLTON J.R., 1972) Um esquema simplificado do equipamento é mostrado na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**4.

A) Unidade de campo magnético: O campo magnético é produzido por eletroímãs que geram campos uniformes na região entre os pólos. Um sistema de varredura conectado à fonte possibilita a variação linear do campo magnético entre os pólos do eletroímã.

B) Unidade de microondas: As microondas são geradas em válvulas eletrônicas especiais, denominada “Klystron”, em sistemas mais antigos ou por dispositivos de estado sólido como o “diodo Gunn”. Os espectrômetros de RPE são construídos para operarem com frequências fixas e campo magnético variável.

A transmissão das micro-ondas a partir do gerador até a cavidade é feita por meio de um guia de onda o qual é um tubo oco e de seção transversal retangular com paredes internas metálicas e polidas, suas dimensões estão determinadas pela frequência das micro-ondas (3 cm no caso de 9 GHz) as componentes da ponte de micro-ondas são o T mágico, o isolador, o medidor de comprimento de ondas (ou frequência) e o atenuador.

O T mágico é um dispositivo que serve para acoplar a energia das micro-ondas para dentro e fora da cavidade ressonante. Atua dirigindo as micro-ondas que saem do klystron para a cavidade ressonante, e as micro-ondas que são refletidas pela cavidade para o detector. Em muitos espectrômetros esta função é realizada por um circulador.

A frequência das micro-ondas é mantida estável através de um circuito de controle automático de frequência (AFC), que sintoniza a frequência emitida pelo gerador de micro-ondas com a frequência de ressonância da amostra na cavidade.

C) A cavidade ressonante: armazena a energia das micro-ondas em ondas estacionárias produzidas no seu interior, resultando na amplificação do sinal por um fator que varia de 10^2 a 10^4 . O posicionamento da amostra na cavidade deve ser de forma a ocupar a região de máximo campo magnético e mínimo campo elétrico. As cavidades de espectrômetros que operam com frequência superior aos espectrômetros de banda X ($\sim 9,5$ GHz) apresentam variações

importantes de sensibilidade com a posição e quantidade de amostra, por isso a dificuldade de sua utilização em medidas quantitativas.

D) Unidade de detecção e registro do sinal: A detecção em fase do sinal de RPE é obtida com a modulação do campo magnético por meio de bobinas adicionais localizadas nas laterais da cavidade. O sinal de ressonância é modulado com frequência que vai de 10 a 100 kHz e baixa amplitude, melhorando a relação sinal-ruído, como resultado tem-se um sinal DC observado como a primeira ou segunda derivada da curva de absorção. O valor da amplitude de modulação deve ser em torno de 50 % da largura de linha de absorção, pois uma modulação pequena reduz a sensibilidade e caso contrário, uma modulação excessiva distorce a linha de ressonância.

Figura 2.4 Desenho esquemático de um espectrômetro de banda X. Figura retirada de (HAGEN WR.; 2008.)

E) Forma de linha e largura.

As formas de linhas de sinal de RPE nem sempre são simétricas, no entanto, quando se encontra formas simétricas, elas podem se caracterizadas por dois tipos principais: Gaussiana Figura 2.5 e Lorentziana Figura 2.6.

Observando as Figuras 2.5 e 2.6, podemos notar que independentemente do tipo da curva, a amplitude do sinal da segunda derivada é definida pela distância $2Y'_{\max}$, e a amplitude do sinal da segunda derivada é definida como $A+B$. A largura da linha já é melhor interpretada pelos parâmetros ΔH_{pp} (intervalo pico a pico) que representa a distância entre os extremos da primeira derivada, e por Γ que indica a metade do comprimento da linha que cruza com a curva da de absorção, na metade de sua altura máxima.

Figura 2.5. Gráfico mostrando a curva de absorção do tipo Gaussiana, bem como a forma de sua primeira e segunda derivada.

Figura 2.6. Gráfico mostrando a curva de absorção do tipo Lorentziana, bem como a forma de sua primeira e segunda derivada.

Capítulo 3 - Dosimetria por Ressonância do Spin Eletrônico em Tecidos Duros

3.1. Dosimetria por Ressonância do Spin Eletrônico em Dentes

A Dosimetria por RPE utiliza centros paramagnéticos como indicadores de dose de materiais irradiados em laboratório ou pela radioatividade natural, é uma técnica que também pode ser utilizada em casos de acidente com radiações ionizantes, pois permite a utilização de integrantes do corpo como dosímetros. Os centros paramagnéticos são produzidos pela radiação incidente, que ioniza os átomos do material gerando elétrons livres que são em parte capturados por impurezas ou defeitos inerentes à rede cristalina (GRUN, 2006). Estes elétrons, capturados pelas impurezas ou defeitos da rede, originam os centros paramagnéticos detectados por RPE.

A vida média desses centros pode variar de algumas horas a milhões de anos. Para aplicações em datação de materiais geológicos ou arqueológicos é necessário que o radical paramagnético tenha uma vida média entre 10^6 e 10^7 anos, enquanto que para aplicações em dosimetria essa vida média pode ser menor. Para que um centro paramagnético possa ser utilizado na dosimetria das radiações ionizantes é necessário que satisfaça duas condições: que tenha um tempo de vida muito maior que o tempo entre a irradiação da amostra e a medida de RPE feita na amostra, e que ao ser produzido pela radiação não sature no intervalo de dose de interesse.

3.2. Método de Doses Aditivas

A concentração de radicais paramagnéticos criados durante um processo de irradiação de um material pode ser associada à área sob o sinal de ressonância ou à sua intensidade pico a pico,

e aumenta com a dose até atingir a saturação (Figura 3.1). A determinação da dose absorvida ou dose acumulada (DA) em uma amostra sujeita a qualquer processo de irradiação (industrial, acidental ou natural) pode ser efetuada pelo “método das doses aditivas”, conhecendo-se a função analítica que descreve o crescimento do sinal de RPE com a dose (IKEYA, 1993).

O método das doses aditivas foi desenvolvido por Ikeya em 1975, consiste em medir inicialmente o sinal de RPE da amostra irradiada com a dose desconhecida. A seguir, irradia-se a amostra com doses sucessivas de uma fonte calibrada, e mede-se o sinal RPE após cada irradiação. Com a determinação da intensidade do sinal, constrói-se o gráfico de crescimento do sinal de RPE com a dose de laboratório. Ajustando-se os pontos experimentais, temos a curva de crescimento do sinal com a dose. Ao extrapolar esta curva até o eixo das doses, a dose inicial pode ser determinada medindo o tamanho do segmento extrapolado sobre o eixo das doses. A Figura 3.2 exemplifica o método: as doses D_1 , D_2 , D_3 e D_4 foram aplicadas após a medida inicial, I_0 , e produziram as intensidades I_1 , I_2 , I_3 e I_4 respectivamente. Ao ajustar os valores obtidos em uma curva, o resultado foi uma variação linear, sendo que ao extrapolar a reta teremos como DA à dose desconhecida que gerou o valor inicial I_0 antes das irradiações de laboratório.

A precisão deste método depende do conhecimento do espectro da espécie paramagnética utilizada como indicador da dose, das condições de irradiação da amostra em laboratório, e da escolha da função de extrapolação dos dados experimentais.

Figura 3.1 Figura mostrando a variação do sinal de RPE com a dose de radiação para um material que satura na faixa de doses mostrada. Figura adaptada de (Ikeya, 1993).

Figura 3.2 Figura exemplificando o método das doses aditivas, sendo que DA indica a dose que é determinada após as sucessivas irradiações de laboratório. Figura adaptada de (IKEYA, 1993).

Para o caso em que as doses aplicadas são consideravelmente menores que as doses de saturação do sinal de RSE, o ajuste pode ser realizado através de uma regressão linear. Porém nas irradiações com doses próximas à saturação do sinal, a extrapolação é geralmente efetuada com uma função exponencial (Figura 3.1) (IKEYA, 1993; GRÜN, 1996).

Onde a dose absorvida D , de qualquer radiação ionizante, é a quantidade de energia dE cedida à matéria pelos fótons ou partículas ionizantes, por unidade de massa dm , e pode ser expressa pela equação:

$$D = \frac{dE}{dm} \quad (3.1)$$

A dose absorvida é usualmente medida em joules por quilograma (J/kg), também denominada gray (Gy) onde:

$$1\text{Gy} = 1 \text{ J/kg} \quad (3.2)$$

3.3. A Hidroxiapatita (HAp) e o Esmalte Dental .

A hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_2)_6$ (HAp), é um composto a base de cálcio e fosfatos, e é o principal constituinte dos tecidos ósseos e dentários, doenças que atingem os ossos estão relacionadas com a maior ou menor deposição e absorção deste material pelo organismo, a HAp tem sido usada em medicina como substância carreadora de drogas no tratamento de câncer de osso (LASSERRE, 1998), recobrimento das superfícies metálicas de implantes ósseos e dentários possibilitando uma melhor osteointegração (MANJUBALA, 2002), o composto também é usado na absorção de metais pesados em áreas poluídas e a análise de espectros de radicais CO_2 ionizados, por Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).

No caso da análise por (RPE), a grande estabilidade dos radicais criados pela radiação faz da HAp um dos materiais mais estudados, sendo que a sua presença em tecidos calcificados dos seres vivos permite a datação de fósseis (MASCARENHAS, et al., 1982), e medidas quantitativas

de doses absorvidas, seja em caso de acidentes envolvendo materiais radioativos ou em tratamentos radioterápicos (ROMANYUKHA et al., 1996; VANHAELEWYN et al., 2001). Os radicais carbonatos, gerados pela radiação, durante seu processo de mineralização íons carbonato, que são impurezas no cristal, são incorporados à rede cristalina podendo substituir a hidroxila OH (sítio tipo A), ou o fosfato PO_4^{3-} (sítio tipo B). Durante a absorção de energia ionizante pela rede cristalina da (HAp), o íon carbonato captura um elétron livre na rede cristalina formando um centro paramagnético (IKEYA 1996; CALLENS et al., 1987). A datação por (RPE) permite analisar fósseis com milhões de anos e corresponde a uma diferencial para a técnica de datação por carbono 14 (meia vida 5.730 anos), cujo uso é limitado em cerca de 50 mil anos.

O sinal de (RPE) obtido da hidroxiapatita, na região de $g = 2$ é atribuído a radicais CO_2^- decorrentes da presença de impurezas de carbonato CO_3^{2-} , tomando a literatura observamos este sinal em banda-X (9.5 GHz) possuindo uma simetria axial, apresentando valores de g da ordem de 2.0032 e 1.9983 para as componentes perpendicular e paralelas, respectivamente, e com simetria ortorrômbica sendo $g_{xx} = 2.0032$; $g_{yy} = 1.9972$ e $g_{zz} = 2.0025$ (IKEYA, 1993; SCHRAMM et al., 2000; ARAGNO et al., 2000; VANHAELEWYN et al., 2001), o sinal deste radical vem sendo utilizado como indicador de dose absorvida (sinal dosimétrico produzido pela radiação em tecidos calcificados), que se sobrepõe a um sinal com uma linha larga, isotrópica com $g = 2.0045$, pela presença de componentes inorgânicos no esmalte, onde este último sinal pode ser maior que o sinal dosimétrico, o que pode introduzir uma significativa incerteza para doses baixas de radiação (dosimetria de acidentes), podendo mascarar o sinal que nos interessa. Na tentativa de resolver este problema vários métodos foram propostos como tratamento térmico e químico das amostras, saturação do sinal e simulação computacional (IAEA, 2002).

O esmalte dental forma uma capa protetora, de espessura variável, sobre a superfície da coroa dental (Figura 3.3). Devido à alta quantidade de sais minerais em seu conteúdo e seu

arranjo cristalino, o esmalte é o tecido mais duro do nosso organismo. Sua constituição é de cerca de 96% de material inorgânico e apenas uma pequena quantidade de material orgânico e água 4%, sendo que o material inorgânico é basicamente formado por apatitas (MJOR, 1990; BHASKAR, 1989).

Em 1973, Mascarenhas et al., utilizaram ossos e dentes como indicador da dose em acidentes no *American Physical Society Meeting*, observaram um sinal de RPE intenso em ossos de vítimas da Bomba-A. Foi proposto então uma avaliação de doses recebida pelas vítimas de Hiroshima através do esmalte dental, a fim de proporcionar um tratamento médico adequado e estudar os efeitos biológicos produzidos pela radiação.

Figura 3.3 Desenho mostrando um corte transversal de um dente humano, o esmalte corresponde à estrutura que recobre a coroa dental. Adaptado de (IKEYA 1993).

A radiação ionizante gera radicais livres estáveis na hidroxiapatita, que está presente em ossos (60 – 70%) e dentes (esmalte, 95 – 98%; dentina, 76-78%). Esses radicais podem ser detectados e quantificados por RPE. A intensidade do sinal de RPE é dependente da concentração de radicais presentes na amostra. A determinação da curva *Dose-Resposta* é feita pela técnica de *Doses Aditivas*, já vista anteriormente neste capítulo, essa técnica foi utilizada para avaliar a dose de radiação recebida por vítimas das bombas de Hiroshima e Nagasaki (NAKAMURA et al., 1998), do acidente em Chernobyl (SKVORTSOV et al., 2000) e também de trabalhadores do complexo nuclear de Mayak e habitantes da região do Rio Techa nos Montes Urais (ROMANYUKHA et al., 1996b; ROMANYUKHA et al., 2000; IAEA, 2002).

3.4. Materiais e Métodos

3.4.1 Preparo do Esmalte Dental

Dois métodos foram testados para a extração de esmalte. Em um deles, um pequeno prisma foi removido do esmalte, enquanto que no outro, foi realizada uma abrasão intensa na superfície do esmalte com uma broca diamantada, como no procedimento clínico de ajuste oclusal geralmente usado por dentistas, Figura 3.4 A). No primeiro procedimento, a restauração é obrigatória, enquanto no segundo caso esta restauração pode não ser necessária, mas a amostra que sai juntamente com a água utilizada para irrigar o dente precisa passar por um processo de separação. Para estudar os artefatos produzidos nos sinais de RPE associados a estes procedimentos de extração de esmalte, dois dentes molares foram empregados. Eles foram cortados em duas metades e, a dentina foi removida, já que podemos obter um sinal da dentina, mas a presença de outros centros paramagnéticos com origem na parte orgânica, normalmente mais intenso que o sinal do radical CO_2^- , impede que esse material possa ser utilizado na

determinação de doses com grande precisão. Esses sinais são geralmente denominados de sinais não dosimétricos. Portanto verificamos a importância de separarmos o esmalte da dentina. Esses métodos podem ser mecânicos e/ou químicos. Nos métodos mecânicos utilizam-se brocas, bisturis e serras para remover a dentina do esmalte, na Figura 3.4 B) podemos visualizar uma broca diamantada utilizada neste procedimento. Métodos de separação química também foram utilizados por Romanyukha (ROMANYUKHA et al., 1996c), onde verificou-se que meios ácidos levam à uma dissolução da parte mineral e que meios básicos destroem a parte orgânica.

Figura 3.4. A) as brocas diamantadas de alta rotação, utilizadas na retirada do esmalte por abrasão intensa. B) Uma broca diamantada utilizada para separar o esmalte da dentina mecanicamente. C) um almofariz de ágata e um pilão, utilizado para pulverizar o esmalte dentário.

Uma das metades foi manualmente pulverizada por meio de um almofariz de ágata e um pilão, Figura 3.4 C), até que as partículas atingem um diâmetro de aproximadamente 0,5 mm. O esmalte da outra metade foi retirado sob a forma de pó usando uma broca de diamante operacional em baixa velocidade de rotação, sob irrigação abundante com água. O esmalte foi coletado juntamente com a água e separados por centrifugação a 500 rpm. A água foi retirada do tubo de ensaio, e o esmalte seco em forno a 35 ° C. O pó de esmalte obtidos em cada processo foram homogeneizados separadamente, e os espectros de RPE foram registrados em um espectrômetro JEOL FA-200 Banda-X (~9 GHz), usando os parâmetros listados na Tabela 3.1. O procedimento usando um almofariz de ágata não gerou artefatos. Assim, as amostras obtidas usando este método foram empregadas nos experimentos seguintes. O esmalte moido manualmente foi dividido em alíquotas em pó e irradiados em uma fonte de Cobalto-60 (1.25 MeV) (Gammatron-S Siemens), Figura 3.5, com uma taxa de dose de 1 Gy / min, a uma distância fonte-superfície de 80 cm e usando um placa acrílica de 5 mm. As amostras foram submetidas a doses variando de 0,1 a 20 Gy. Todas as irradiações foram realizadas no Serviço de Radioterapia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HC-FMRP-USP), em acordo com o protocolo 398 da AIEA (IAEA, 2000).

Figura 3.5. a) Fotografia do equipamento de radioterapia do Hospital das Clínicas da FMRP, usado para a irradiação das amostras de esmalte dental. b) amostras preparadas para serem irradiadas, colocadas entre duas placas de acrílico, de 5 milímetros de espessura para o equilíbrio eletrônico.

3.4.2 Obtenção dos Parâmetros de Operação do Espectrômetro Jeol - FA 200 Banda X

3.4.2.1 Potência de Micro-ondas

Sabe-se que a intensidade do sinal aumenta com a potência, no entanto deve-se evitar a saturação, então medimos a intensidade do sinal para diversos valores de potência, mantendo-se inalterada as demais condições. O gráfico nos mostra que a saturação do sinal ocorre para valores maiores que 16 mW. Neste trabalho os valores utilizados variaram entre 2 e 10 mW para a Banda-X.

Figura 3.6. Gráfico da amplitude de RPE em função da raiz quadrada da potência de microondas para o espectrômetro Jeol - FA 200 Banda X.

3.4.2.2 Amplitude de Modulação

A amplitude de modulação influencia tanto a largura de linha quanto à intensidade do sinal de RSE. A intensidade do sinal aumenta com a amplitude de modulação, no entanto deve-se manter a forma original do sinal, então analisamos essa dependência para determinarmos a melhor modulação a ser utilizada. Observando a Figura 3.7 nota-se que com amplitude de modulação maiores que 0,25 mT a largura de linha começa a aumentar, indicando o início da sobremodulação. Neste trabalho utilizamos uma modulação de 0,2 mT para a Banda-X.

Figura 3.7. Largura do sinal em função da amplitude de modulação para o espectrômetro Jeol FA-200 Banda X

Os demais parâmetros de operação dos espectrômetros Jeol FA-200 Banda X e do espectrômetro Banda – K são apresentados na tabela 3.1.

Tabela 3.1: Parâmetros utilizados para aquisição dos espectros de RPE em Banda - X e Banda – K.

Parâmetro	Banda-K	Banda-X
Frequência de Micro-ondas	~ 24 GHz	~ 9 GHz
Cavidade ressonante	TE ₀₁₁ cilíndrica	TE ₀₁₁ cilíndrica
Potência de Micro-ondas	10 mW	2-10 mW
Campo Central	858 mT	338 mT
Largura de Linha	8 mT	10 mT
Frequência de modulação do Campo Magnético	100 kHz	100 kHz
Amplitude de modulação do Campo Magnético	0.2 mT	0.2 mT

Constante de Tempo	0.2 s	0.1 s
Tempo de Varredura	2 min	1 min
Número de Espectros Acumulados	10 - 56	160 – 600
Massa da Amostra	5 - 10mg	30 – 70mg
Diâmetro interno do Tubo das Amostras	3 mm	4 mm

Todos os espectros foram registrados a temperatura ambiente em um espectrometro JEOL FA-200 Banda-X e em um espectrometro com ponte de microondas da Buker na Banda-K (~24 GHz) , Figura 3.8, usando os parâmetros listados na Tabela3.1. O espectrômetro de Banda-K foi montado em nosso laboratório e consiste de uma ponte de microondas Banda-K Bruker (ER 067 KG), uma cavidade cilíndrica Banda-K Bruker com fator de qualidade Q nominal de 15.000, um controlador de microondas Bruker (ER 048 R), um eletroímã 12 polegadas Varian (Varian 3900 1.5T), um controlador de campo magnético Bruker (BH-15), um frequencímetro digital (HP 53151A), e um amplificador digital lock-in (EG&G 7260). Estes instrumentos são controlados um microcomputador através de placas GPIB (General Purpose Interface Board) a aquisição de dados é feita por software desenvolvido em ambiente HP-VEE, este software permite ao usuário a escolha dos parâmetros de aquisição do espectro: número, tempo e largura de varreduras, intensidade e frequência de modulação. A sensibilidade do amplificador lock-in é ajustada automaticamente, de acordo com o sinal de entrada. A eficiência de uma cavidade é medida pelo fator de qualidade Q, que está ligado a condutividade interna de suas paredes internas, sendo inversamente proporcional às perdas. Para calibrar os sinais de RPE, a terceira e quarta linhas de um marcador Mn^{2+} em uma matriz de MgO com fator g de 2.03281 ± 0.00002 e $1,98103 \pm 0.00002$ respectivamente, foram usadas no espectrômetro Banda-X, enquanto a linha de uma amostra padrão de DPPH (α,α -difenyl- β -picrilhidrazil) com fator g de 2.0037 ± 0.0002 foi empregada para o espectrômetro Banda-K.

Figura 3.8. Fotografia do A) espectrômetro JEOL FA-200 Banda-X e B) espectrômetro Banda-K

3.4.3. Simulação dos Espectros

Vários softwares são destinados a simulação de espectros de RPE, mas a maioria deles apresenta limitações substanciais. Essas limitações se dão devido ao fato desses programas serem

destinados a aplicações especiais ou sistemas de spins. Eles não podem ser estendidos ou modificados facilmente. Capacidade de visualização é raramente incluída e se disponível, elas são restritas a situações especiais. Existem programas com interface gráfica, muito bons como o Simfonia (WEBER, 1995) , por exemplo, mas apresentam a desvantagem de serem muito inflexíveis frente a possibilidade de novas aplicações. Recentemente Stoll (STOLL S. AND SCHWEIGER A., 2006) desenvolveram um pacote de funções que simulam espectros de RPE dos mais variados tipos (STOLL S. AND SCHWEIGER A., 2007; STOLL S. AND BRITT R.D. 2009a) com a proposta de solucionar algumas das limitações citadas. Esse software, chamado "EasySpin" é escrito em MATLAB® é disponibilizado livremente pelo autor no endereço eletrônico mostrado na referência (STOLL S., 2009b)

Simulações de computador foram realizadas utilizando o Simfonia (Bruker) e software EasySpin para identificar os radicais presentes nos espectros obtidos em Banda-X.

A decomposição de espectro de RPE em componentes devidos a diferentes centros paramagnéticos, em amostras que apresentaram sobreposição dos sinais pico, foi feita utilizando as propriedades de simulação da função "*pepper*" do programa "EasySpin" (STOLL S. AND SCHWEIGER A., 2006), Essa função simula o espectro de RPE de estado sólido de pó, de soluções congeladas e cristais. A função "*pepper*" pode ser chamada com dois ou três parâmetros de entrada e retornar ambos os eixos do campo magnético e o espectro. Um exemplo de utilização simplificado pode ser visto abaixo:

```

Sys.S=1/2;           % número total S de spin do sistema

Sys.g=[2.0025 1.9973] %tensor g com simetria axial, isto é,  $g_{xx} = g_{yy} \neq g_{zz}$ 

Sys.lwpp=0.5;        %largura da linha de pico a pico, mT

Exp.mwFreq=9.5;      %frequência da microondas em GHz

```

```
pepper(Sys,Exp);           %retorna o eixo com campo e o espectro
```

Este código simula e põe no gráfico o espectro RPE de 9,5 GHz de um sistema com $S=1/2$ e com tensor g axial. Para ver o gráfico basta copiar e colar na janela de comandos do MATLAB. Apesar do programa EasySpin possuir uma função destinada a ajustes de espectros, a função *easfit* só é capaz de simular e ajustar espectros com apenas um tipo de centro paramagnético. Esse também é o caso dos softwares Simfonia da Bruker (WEBER, 1995) e do software EPRNMR.

Neste trabalho, o conhecimento da estrutura e das componentes constituintes do espectro resultante podem ser adquiridos através do conhecimento da literatura científica (CALLENS et al., 1987; IKEYA et al., 1993). Os procedimentos para o ajuste do espectro consistem nos seguintes passos:

1. Primeiro, o sinal experimental é matematicamente processado. O processamento consiste na:
 - i redução do número de pontos através de uma interpolação por meio da função *interpolate* do programa origin 8.0 para 1024 pontos (padrão Brucker)
 - ii normalizar a escala da intensidade para valores maiores que 1 no programa Origin 8.0
 - iii exportar a coluna de dados comando no formato ASCII.
 - iv carregar no EasySpin com o comando load “espectro experimental”
 - v correção da linha de base por meio da função *basecorr* do *easyspin*;
2. O programa principal recebe os parâmetros iniciais para o início dos cálculos. Os parâmetros iniciais são:

- i intensidade aproximada de cada uma das componentes do espectro;
 - ii os valores dos respectivos tensores g ;
 - iii espectro experimental devidamente processado
3. Em seguida, o programa principal invoca a função *Pepper* que irá simular os parâmetros iniciais. A função é avaliada e caso necessário um novo valor é fornecido como parâmetro de entrada, e o programa é retroalimentado até que a iteração entre os espectros simulado e experimental seja alcançada.

O alinhamento do espectro experimental com a função *pepper* é fundamental para que os valores dos tensores sejam equivalentes, para isso determina-se a frequência da função, isto é, encontra-se a frequência do parâmetro *Exp.mwFreq* até que os espectros simulado e experimental se sobreponham. Encontrada esta frequência, tem-se que os fatores g do espectro experimental e simulados são correspondentes.

O código foi escrito em MATLAB e está disponível no apêndice A para mais detalhes.

Figura 3.9. A figura mostra os espectros simulado, experimental, componente axial e isotrópica do sinal de RPE em Banda-X, para uma amostra de esmalte dentário irradiado com 3Gy, utilizando o programa de simulação EasySpin.

Figura 3.10. A figura mostra os espectros, experimental, simulado, componente axial e componente isotrópica do sinal de RPE em Banda-X, para uma amostra de esmalte dentário irradiado com 3Gy, utilizando o programa Origin 8.0.

Na Figura 3.10, mostramos os espectros, experimental, simulado, componente axial e componente isotrópica do sinal de RPE em Banda-X, cujos dados foram importados do Programa EasySpin para uma melhor manipulação dos mesmos no programa Origin 8.0.

Para simular o procedimento clínico de restauração de dentes, o terceiro dente molar superior, em bom estado, foi utilizado.

3.5. Resultados e Discussões

A Figura 3.11 mostra os espectros de RPE experimental e simulado Banda-X, do esmalte dos dentes não irradiados extraídos pelos dois métodos estudados neste trabalho: (A) manualmente utilizando um almofariz de ágata e um pilão, e (B) com uma broca dentária diamantada. Figura 3.11 (A) mostra que o sinal de fundo RPE do esmalte dos dentes que foi manualmente triturado não apresenta qualquer artefato no sinal. Por outro lado, Figura 3.11 (B) mostra que o sinal de fundo de RPE do esmalte dentário obtido com uma broca diamantada possui um sinal de artefato de um radical mecanicamente induzido. Observe que o resultado observado na Figura 3.11 (A) só é obtido para o esmalte moído manualmente em um almofariz de ágata até que as partículas atinjam um diâmetro aproximado de 0,5 mm. Este resultado está de acordo com o protocolo da AIEA (IAEA, 2002) e o relatório de Polyakov (POLYAKOV et al., 1995), que estabeleceram a importância do tamanho dos grãos do esmalte em pó empregados para dosimetria retrospectiva de RPE do esmalte dentário. O protocolo da AIEA recomenda uma granulometria entre 0,1 e 1 mm, para garantir a reprodutibilidade das medidas de RPE. Polyakov, (POLYAKOV et al., 1995), demonstraram que a redução do tamanho dos grãos de 0,25 para 0,15 mm produz um aumento da amplitude dos sinais de artefato. A Figura 3.11 (B) também contém a

simulação computacional dos sinais: artefato, nativo ou (de fundo), e simulados (artefato + nativo).

A)

B)

Figura 3.11. Espectros de RPE experimental e simulado em Banda-X de esmalte de dente não irradiados em pó por dois métodos: (A) manualmente triturados com um almofariz de ágata e pilão. A linha isotrópica tem $g = 2,0045$; (B) em pó produzido por abrasão usando uma broca diamantantada com irrigação abundante. O espectro experimental pode ser deconvoluído em dois sinais, isotrópico ($g = 2,0045$) e axial ($g_{\perp} = 2,0025$ e $g_{\parallel} = 1,9973$).

Uma vez que as amostras de esmalte retiradas cuidadosamente com almofariz de ágata e pilão não apresentam sinais mecanicamente induzida, como mostra a Figura 3.11 (A), este foi o procedimento adotado nos experimentos seguintes. A Figura 3.12 (A) corresponde à espectros experimentais e simulados de RPE em Banda-X do esmalte dentário irradiado com uma dose de 500 mGy. Usando simulação computacional, o sinal dosimétrico pode ser representado por uma linha axial com parâmetros Hamiltoniana de spin $g_{\perp} = 2,0025$ e $g_{\parallel} = 1,9973$. Observe que os parâmetros de RPE deste sinal dosimétrico são os mesmos observados no sinal de artefato mecanicamente induzido pela broca diamantada, Figura 3.11 (B). A intensidade do sinal devido a este artefato é equivalente ao induzido por uma dose de 500 mGy de radiação gama, Figura 3.11 (B), indicando que doses abaixo deste valor não poderiam ser detectadas pelo espectrometro JEOL FA-200 de Banda-X, quando o esmalte for extraído por uma broca diamantada, pois o sinal dosimétrico seria mascarado pelo sinal de artefato mecanicamente induzido.

A forma do sinal de artefato na Figura 3.11 (B) está de acordo com os resultados de Desrosiers (DESROSIERS et al., 1989), que também relataram um sinal com fatores g idênticos aos sinais de radiação induzida pelo uso de brocas diamantadas de alta velocidade, mas a intensidade relacionada pelos autores são mais elevados, variando de 20 a 60 Gy. No entanto, Kirílov (KIRÍLOV et al. 2007) encontraram uma linha isotrópico, que foi associado a um aumento da temperatura da amostra durante a fricção mecânica (ARAGNO et al., 2001). Uma vez que nossas amostras foram preparadas sob irrigação intensa, simulando uma situação clínica, esta linha não foi observada.

Figura 3.12. (A) espectro RPE Experimental e Simulado em Banda-X esmalte de dente esmalte com uma dose de 500 mGy, manualmente triturados. (B) curva dose-responsta.

Simulação em computador utilizando o programa EasySpin, Figura 3.9, foi usado para a construção da curva dose-resposta dos sinais induzidos por dosimetria de RPE, como os mostrados na Figura 3.12 (A), esta curva para os sinais detectados no espectrômetro de Banda-X, está representada na Figura 3.12 (B). Usando este método, foi possível medir as amplitudes pico a pico dos sinais dosimetricos induzidos das amostras irradiadas com doses a partir de 100mGy.

Para as doses testadas, a curva dose-resposta revela uma resposta linear para as amplitudes pico-a-pico dos sinais de RPE do esmalte do dente com o aumento das doses, com um R-quadrado de 0,99679 para o ajuste linear, onde o valor de R-quadrado é um número de 0 a 1 que revela o grau de correspondência entre os valores estimados para a linha de tendência e os dados reais. A linha de tendência é mais confiável quando o valor de R-quadrado é 1 ou próximo de 1. Conhecido também como coeficiente de determinação.

A Figura 3.13 ilustra os resultados experimentais obtidos usando o espectrômetro Banda-K. A Figura 3.13 (A) mostra os espectros de RPE de dentes irradiados com três doses diferentes: 0 Gy (não irradiado), 0,1 Gy, e 20 Gy. Os dois primeiros sinais na Figura 3.13 (A) sinal de fundo, e irradiado com 0,1 Gy estes espectros mostram claramente o surgimento de um sinal dosimétrico provocado por uma dose de irradiação de 0,1 Gy. Também é possível observar que a amplitude pico-a-pico do sinal dosimétrico detectado pelo espectrômetro para a dose de 20 Gy é ~300 vezes maior do que a amplitude do sinal por 0,1 Gy. Uma avaliação global das incertezas envolvidas no processo de dosimetria desta e de outras avaliações realizadas em nosso laboratório indica que é possível em Banda-K estimar uma dose 100 mGy com precisão de 25%. Observe que os sinais na Figura 3.13 (A) correspondem a resultados experimentais sem aplicação de qualquer processamento de sinal ou filtro para uma melhor visualização. Figura 3.13 (B) corresponde à curva dose-resposta linear obtida com o auxílio do espectrômetro de Banda-K, com um R-quadrado de 0,99969 para o ajuste linear. Na Figura 3.13 (B) A resposta do sinal dosimétrico detectado por RPE para a dose de 0,1 Gy foi de $0,0365 \times 10^{-6}$ (u.a).

A)

Figura 3.13 (A) Banda-K espectro de RPE de 10 mg do esmalte dentário manualmente preparado com almofariz de ágata e pilão e irradiados com doses de 0,1 Gy e 20 Gy. (B) Curva dose resposta.

A Figura 3.14 (A) compara os sinais de RPE do esmalte dentário irradiado com uma dose de 20 Gy registrados em Banda-X e Banda-K dos espectrômetros utilizados neste trabalho. Os

fatores-g do sinal em ambos os espectrômetros são próximos: $g_{\perp} = 2,002$ e $g_{\parallel} = 1,997$. Esta figura demonstra claramente que o espectrômetro de Banda-K possui maior resolução e sensibilidade para pequenas massas de esmalte do dente em comparação com o espectrômetro de Banda-X, uma vez que os espectros foram registrados com uso de 10 mg e 100 mg, respectivamente. As Figuras. 3.13 e 3.14 (A) revelam que os espectros de RPE Banda-K tem uma relação sinal-ruído de ~ 10 vezes para doses mais elevadas. Para doses inferiores a 1 Gy as medições mostraram uma relação sinal-ruído de ~ 5 vezes. Romanyukha (ROMANYUKHA et al., 2007) também usaram de alta frequência (Banda-Q, ~ 35 GHz) na dosimetria de RPE e demonstraram que 4 mg é a massa ideal de esmalte dentário, nesta frequência), isso é menos de 1% do montante total do esmalte de um dente molar,.

No entanto, eles encontraram menor reprodutibilidade nos espectros em Banda-Q, atribuída à sensibilidade consideravelmente mais elevada deste espectrômetro, o que torna o sinal mais vulnerável a pequenas mudanças no posicionamento da amostra no ressonador e redistribuição de seus grãos no tubo de amostras. Este efeito não foi observado para as medições em Banda-K. A Figura 3.14 (B) compara três sinais de RPE, de 10 mg do esmalte dentário irradiado com uma dose de 3 Gy registrado pelo espectrômetro Banda-K. Os espectros K1, K2 e K3 foram obtidos usando posicionamentos diferentes das amostras no ressonador e diferentes distribuições dos grãos no tubo de amostra. A Figura 3.14 (B) denota uma maior reprodutibilidade das medições das amplitudes de pico-a-pico (R) dos sinais de RPE no espectrômetro Banda-K. Os fatores-g perpendiculares dos espectros K1, K2 e K3 estão próximos de $g_{\perp} \sim 2,0016$, porém, como esperado, o valor de $g_{\parallel}$ é mais sensível às mudanças no posicionamento da amostra no ressonador e a redistribuição de seus grãos no tubo de amostra. Assim, independentemente da menor relação sinal-ruído em

Fig 3.14. (A) Espectros em Banda-X e Banda-K do esmalte dentário irradiado com uma dose de 20 Gy. (B) Três espectros diferentes medidos em Banda-K do esmalte dentário irradiado com uma dose de 3 Gy, mostrando a reprodutibilidade das medidas.

em comparação com os espectros em Banda-X, as medições no espectrômetro de Banda-K ofereceram maior reprodutibilidade. Kinoshita, (KINOSHITA et al., 2005a, b), e Abrego (ABREGO et al., 2007), já empregaram com sucesso espectrometria em Banda-K para medições quantitativas maiores detalhes podem ser encontrados nestas referências. Para o esmalte do dente de fósseis, os espectros de Banda-K descrevem os mesmos radicais que são encontrados para a Banda-Q na região de $g \sim 2$ (KINOSHITA et al., 2005a) assim, as resoluções espectrais são as mesmas para este material.

Pessoas expostas a uma dose de 100 mGy podem ser tratadas clinicamente se esta dose for determinada no tempo correto. Considerando-se os procedimentos de extração, 10 mg de esmalte é inofensivo se levarmos em conta possíveis danos ao dente a ser restaurado. No presente trabalho, foi determinada uma massa de amostra ideal do esmalte dentário de 10 mg para um limite de detecção de dose 100 mGy para o espectrômetro de Banda-K, Figura 3.13 (A). Assim, observando-se que os espectros obtidos com espectrômetro Banda-K possuem uma maior resolução e sensibilidade para massas de dentes pequenas de esmalte em comparação com o espectrômetro de Banda-X, e possui uma melhor reprodutibilidade e uma maior taxa de ruído do sinal em comparação com o espectrômetro Banda-Q, é claro as vantagens de usar a frequência de Banda-K, quando apenas temos disponíveis 10 mg de esmalte dentário. Finalmente, para demonstrar que a extração de 25 mg de esmalte dentário também pode ser minimamente invasiva, um procedimento clínico para restauração de um dente usado na reconstrução dose em RPE foi simulado.

A Figura 3.15 ilustra algumas etapas de remoção de esmalte de um dente, previamente irradiado com 100 mGy *in vitro*, e a restauração dentária com resina fotopolimerizável. Uma fração em forma de bloco cujas dimensões eram de 1,70 mm x 2,00 mm x 2,55 mm ($\sim 8,6 \text{ mm}^3$) e de aproximadamente 25 mg de esmalte da região cúspide mesiomolar, foi cortada e removida

usando um motor de alta velocidade equipado com uma broca dentária diamantada N. 3200 (KG Sorensen - Barueri / SP - Brasil) sob refrigeração abundante com água destilada, para evitar aquecimento da superfície Figuras 3.15 (A) e (B). A dentina remanescente dessa fração foi removida, e o esmalte foi utilizado nos experimentos de RPE. A região do dente, de onde a amostra foi extraída foi submetida aos procedimentos de restauração com resina fotopolimerizável. Inicialmente ácido fosfórico, 37% (Ácido gel - Dentalville do Brasil Ltda - Joinville / SC - Brasil) foi aplicado por 30 s na superfície do esmalte e por 15 s sobre a dentina, seguido por lavagem com água e secagem Figura 3.15 (C). Então, um agente de ligação (Prime & Bond 2.1 - Dentsply) foi aplicado, Figura 5 (D), e ativado com luz halógena ($\lambda = 470$ nm, 600 mW/cm², Optilight LD Max- GNATUS) por 20s. A resina fotopolimerizável (3M ESPE, Dental Produtos, St. Paul - EUA) foi adaptada, e moldada na forma da amostra removida, e em seguida fotopolimerizada para a restauração completa, Figura 3.15 (E). A fração extraída do esmalte foi limpa com água, seca, e manualmente triturada em pequenas partículas com diâmetro ($\phi < 0,5$ mm) por meio de um almofariz de ágata e pilão.

Fig.3.15.Procedimento clínico para restaurar um dente usado na reconstrução da dose em RPE (A) terceiro dente molar superior extraídos por razões clínicas; (B) fração de cerca de 25 mg de esmalte extraído da região cúspide mesiomolar sob refrigeração abundante; (C) ácido fosfórico 37% aplicado sobre as superfícies; (D) agente de união sendo aplicado; (E) a restauração completa com resina fotopolimerizável.

A Figura 3.16 mostra o espectro de RPE em Banda-X do esmalte do dente de apenas 25 mg de massa e irradiado com uma dose de 100 mGy. Onde os sinais dosimétrico, de fundo, e simulado podem ser observados. Os parâmetros da Hamiltoniana de Spin encontrados por simulação dos sinais foram os mesmos que os encontrados na Figura 3.12 (A): $g_{\perp} = 2,0025$ e $g_{\parallel} = 1,9973$ para o sinal dosimétrico, e $g = 2,0045$ para o sinal nativo.

Fig. 3.16. Espectro de RPEem Banda-X, de 25 mg de esmalte irradiado com uma dose de 100 mGy, demonstrando que mesmo com um espectrômetro relativamente modesto é possível obter um sinal. Os parâmetros de aquisição são apresentados na Tabela 1.

Capítulo 4 – Dosimetria por Ressonância do Spin Eletrônico em Alimentos

4.1. Dosimetria por Ressonância do Spin Eletrônico em Goma Arábica

Goma arábica é produzida naturalmente pela Acácia, árvore pertencente à família Leguminosae (FAO/WHO, 1986), existem mais de duzentas espécies de Acácia, dos quais apenas dez produzem gomas, mas as únicas espécies que produzem a legítima seiva que recebe o nome de goma arábica são Acácia senegal e Acácia seyal, que são subdivididos em diversas variedades (por exemplo *kerensis* ou *rostrata* para Acácia senegal e *fístula* para Acácia seyal). Goma arábica é também conhecida como goma acácia ou goma mimosa (COLLOIDES, 2009).

Figura 4.1. a) A flor de acácia. Árvores que produzem a legítima seiva que recebe o nome de goma arábica são Acácia senegal b) e Acácia seyal c). Imagens retiradas de (COLLOIDES, 2009).

Acácias são árvores selvagens localizadas na região central da África o principal produtor é o Sudão com cerca de 70% (ABDEL et al., 1997), os demais países produtores são a Mauritânia, Senegal, Mali, Burquina Fasso, Níger, Nigéria, Chade, Camarões, Eritreia, Etiópia, Somália, Quênia e Tanzânia, durante a estocagem deste material para sua posterior comercialização surgem microorganismos em decorrência das condições climáticas e do tempo de estocagem.

Figura 4.2. a) Região onde está localizado o habitat natural da goma arábica na região central da África. As figuras b) c) d) e e) ilustram o processo de extração da seiva da árvore acácia, a goma arábica. Imagens retiradas de (COLLOIDES, 2009).

A Goma arábica é usada na produção de alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos, e ultimamente também tem sido utilizada na medicina (KEOGH et al., 1998; FAO, 2000; MBUNA et al., 2003). Há muito vem sendo utilizada na indústria alimentar, pois possui propriedades emulsionantes, agentes flavorizantes, umidificantes, espessantes, agentes de superfície, retardador da cristalização de açúcares, bebidas doces, encapsulamento de produtos de padaria, é também utilizado na produção de cerveja, graças a sua baixa viscosidade e devido à sua falta de gosto e odor, podendo ser incorporada em grande quantidade em gêneros alimentícios, sem perturbação de suas propriedades organolépticas. (MBUNA et. al., 2003; GASID, 2005; COLLOIDES, 2009).

Tratamentos químicos com o dibrometo de etileno têm sido utilizados na descontaminação da goma arábica, mas este produto é extremamente nocivo à camada de ozônio, já tendo sua comercialização proibida em vários países, e sua fabricação será proibida até 2015 em todo mundo (ANDERSON et al., 1990). Nesta perspectiva existe uma real necessidade de se criarem métodos alternativos para a descontaminação de alimentos, um desses métodos que tem se destacado é a irradiação de alimentos, que vem sendo objeto de estudos a mais de quarenta anos por organizações internacionais tais como a FAO e a WHO, que revisaram estas pesquisas e concluíram que a irradiação de alimentos mesmo em escala industrial é segura e benéfica (IAEA, 1998).

Um importante aspecto no processo de irradiação de alimentos é o de estabelecer níveis de dose de radiação que reduzam significativamente a carga microbiana sem comprometer a qualidade sensorial e nutricional do produto. No entanto, a otimização deste processo depende da aplicação de uma dose adequada que possa ser correlacionada com análises laboratoriais. As doses típicas para este tipo de atividade variam de 100 Gy até centenas de kGy (FARRAR IV, 2000; IAEA 1999). Alguns países (Argentina, Bélgica, Chile, Dinamarca, Estados Unidos, França, Hungria, Holanda, Japão e outros), estão utilizando irradiação para diminuir o risco de intoxicações e infecções alimentares e aumentar a vida útil dos alimentos (International Consultive Group on Food Irradiation (ICGFI), 1995). Nos Estados Unidos da América existe também o interesse na irradiação dos alimentos como tratamento fitossanitário para a desinfecção de frutas e legumes frescos, para eliminar pragas de produtos agrícolas importados e, para controlar a bactéria *E. coli* 0157: H7 em carne bovina (ROSS et al., 2000).

Em 1983, a Comissão do Codex Alimentarius, um grupo das Nações Unidas que desenvolve normas internacionais para alimentos, concluiu que alimentos irradiados abaixo de 10 kGy não apresentam risco toxicológico. Atualmente, níveis de tratamento dentro desta faixa,

estão sendo mundialmente realizados e aprovados pela IAEA, OMS e FAO (IAEA, 2003; ANVISA, 2001).

A situação ideal da irradiação de todo o produto é que a dose mínima deveria ser suficiente para atingir o efeito desejado, e a máxima dose deveria ser inferior ao comprometimento das propriedades nutritivas e os atributos sensoriais do alimento (FARRAR IV, 1995).

Apesar de todos os benefícios gerados pela irradiação de alimentos, a radiação ionizante geralmente vem acompanhada da formação dos chamados radicais livres (SCHREIBER et al, 1993; IKEYA et al, 1989). Esses radicais livres por definição são espécies químicas que contêm número ímpar de elétrons e podem estar carregados positivamente, negativamente ou neutros, e geralmente são extremamente reativos e têm sido associados aos processos de envelhecimento e até geração de processos cancerígenos (ELIAS, 1989). Portanto, o monitoramento da formação de radicais livres em alimentos que serão ingeridos pelo homem é muito importante.

Gêneros alimentícios também podem ser utilizados como dosímetros de RPE. Desrosiers, (DESROSIERS, 1996), fez uma revisão do método para detectar alimentos irradiados, como a carne com osso, crustáceos, moluscos, peixes, sementes, frutas secas e frescas, legumes e especiarias, utilizando RPE, como uma alternativa importante de controle para distinguir alimentos irradiados de não-irradiados e se as doses depositadas sobre os alimentos estão de acordo com as doses recomendadas pelos organismos internacionais de controle de alimentos irradiados (SCHREIBER et al, 1993; COLNAGO et al; 1996. MIYAGUSKU et al, 2007).

A técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) é certamente a mais qualificada para monitorar e quantificar os radicais livres nos alimentos irradiados. As características desse método são: permite análises não-destrutivas em amostras sólidas, líquidas e gasosas; alta sensibilidade (limite de detecção 10^{11} spins/grama); as análises podem ser

conduzidas no mesmo material mais de uma vez, sem alterar a intensidade ou gerar sinais. A concentração de radicais livres em uma amostra, gerados ou não pela irradiação, pode ser determinada a partir da intensidade do sinal de RPE. Esse sinal, devido ao método usado na detecção, aparece no espectro sob a forma matemática da primeira derivada da curva da absorção e a concentração dos radicais livres presentes pode ser calculada através da área sob a curva resultante, em alguns poucos casos específicos, a identidade dos radicais livres presentes na amostra pode ser determinada pelo aspecto característico do espectro de RPE (SCHREIBER et al, 1993; IKEYA et al, 1989).

Em estudos recentes com goma arábica amostras foram completamente esterilizadas por doses radioativas de 10,0 kGy utilizando raios- γ e elétrons, pequenas mudanças foram observadas nas propriedades físicas do material, tais como o escurecimento e diminuição da viscosidade, para doses mais elevadas. O melhor regime de doses para a descontaminação da goma arábica para ser utilizada em alimentos, indústria e medicina seria de 5 kGy de acordo com o trabalho realizado por Zaied, (ZAIED et al., 2006), onde adotamos este como limite máximo de dose para este trabalho no intuito de não afetarmos as principais características físicas da goma arábica.

4.2. Materiais e métodos

4.2.1. Irradiação das Amostras.

Neste trabalho foram utilizados goma arábica obtidas Vetec Química Fina Ltda. (Cod. 629, lote 0704307). Amostras de pó de goma de 1 g foram acondicionadas em um saquinho e colocada entre as placas de acrílico o polimetil-metacrilato (PMMA), de 5 mm de espessura e, em seguida submetida a doses variando de 0,5 a 5 kGy. As irradiações foram feitas em um irradiador industrial ^{60}Co (Gammacell) em modo estático com uma taxa de dose de cerca de 2,47 kGy / h,

onde as amostras de goma foram irradiadas com a metade da dose total emitido em um lado (de 0 ° em relação a direção do feixe de radiação) e o valor da outra metade da dose no lado oposto (180 °), a fim de obter uma distribuição mais homogênea da dose (FARRAR IV, 1995). As medidas de RPE foram realizadas em um espectrômetro JEOL FA-200 Banda-X em temperatura ambiente. A Tabela 1 mostra os parâmetros espectrais utilizados para adquirir os sinais de RPE da goma arábica. Para calibrar os sinais foi utilizado o marcador Mn^{2+} do espectrômetro.

4.2.2. Medidas de RPE

4.2.2.1. Medidas de RPE no Espectrômetro JEOL-FA 200 Banda-X

Tabela 4.1: Parâmetros utilizados no espectrômetro JEOL FA-200 Banda-X para as medidas de RPE de goma arábica.

Parâmetro	Valor
Frequência de Micro-ondas	~ 9.45 GHz
Cavidade ressonante	TE ₀₁₁ cilíndrica
Potência de Micro-ondas	5 mW
Campo Central	338 mT
Largura de Linha	± 7.5 mT
Frequência de modulação do Campo Magnético	100 kHz
Amplitude de modulação do Campo Magnético	0.05 mT
Ganho do Receptor	x 1000
Constante de Tempo	0.3 s
Tempo de Varredura	2 min
Número de Espectros Acumulados	5
Tempo Total de Gravação	10.5 min
Massa da Amostra	~5 mg
Diâmetro interno do Tubo das Amostras	4 mm

4.3. Resultados e Discussões

4.3.1. Intensidade do sinal de RPE em função da Dose

A Figura 4.3 mostra os espectros de RPE de goma arábica, sem irradiação e após a irradiação com diferentes doses entre 0,5 e 5 kGy. Todos os sinais de RPE na figura 4.3 foram medidos ~ 140 horas após as amostras serem irradiadas e tem um fator g em torno de 2. As intensidades dos espectros de RPE foram obtidas através da avaliação das suas amplitudes pico a pico (A_{pp}) e suas integrais duplas (ID_{RPE}), na Figura 4.4 pode ser observada a linearidade destas intensidades em função da dose de irradiação por um determinado tempo após a irradiação. O R-quadrado desse ajuste linear são 0,974 e 0,964 para a A_{pp} e DI_{ESR} , respectivamente.

Para o estudo da cinética de radicais gerados pela radiação, monitoramos a evolução temporal do sinal da RPE de goma arábica irradiado com uma dose de 3 kGy. Figura 4.5 mostra esta evolução. Esta figura mostra um espectro de RPE composto e uma rápida deterioração do sinal, logo após a irradiação. A A_{pp} do sinal tem uma queda de 53% nas primeiras dez horas atingindo uma queda de 90% em 1037 horas após a irradiação.

Figura 4.3. Sinal de RPE da goma arábica para diferentes doses de irradiação. Os sinais foram obtidos após 140 horas ser irradiado.

Figura 4.4. A figura mostra a intensidade dos espectros de ESR, ID_{RPE} e valores A_{pp}, em função da dose.

Para melhor observar a cinética de radicais em uma curva que mostra a evolução temporal das concentrações relativas dos radicais livres (C_{REL}), originados após a irradiação das amostras. As concentrações relativas $C_{REL}(D, t)$ para uma determinada dose de irradiação (D) e tempo (t) é definido como:

$$C_{REL}(D, t) = \left[\frac{ID_{RPE}(D)}{ID_{RPE}(D = 0)} \right]_t \quad (4.1)$$

onde $ID_{RPE}(D)$ e $ID_{RPE}(D = 0)$ representam integrais duplas dos sinais de RPE para a dose administrada (D) e para a amostra não irradiada, respectivamente.

Figura 4.5. Sinais de RPE de goma arábica em diferentes tempos após serem irradiados com 3 kGy. Os sinais nos extremos do espectro são do marcador Mn^{2+} .

4.3.2. Decaimento do sinal de RPE em função do Tempo

Por estarem em uma matriz seca, os radicais livres presentes na goma arábica têm relativa estabilidade e os sinais podem ser detectados por vários dias após a irradiação como podemos ver na Figura 4.5. Isto não acontece em alimentos com grande quantidade de água, como as frutas, onde os radicais são altamente reativos. Nesse caso, as amostras devem ser liofilizadas antes da irradiação (RAFFI, 1989; ABDEL, 2002).

A Figura 4.6 mostra o decaimento temporal das concentrações relativas (C_{REL}) de radicais livres originados da goma arábica por uma irradiação de 3 kGy. Nesta figura podemos observar que um ajuste utilizando dois decaimentos exponenciais, (utilizando o programa Microcal Origin 8.0), possui boa concordância com os resultados experimentais. De acordo com esse ajuste, pelo menos duas espécies de radicais livres com meia-tempos de 3,3 e 125,4 horas são produzidas na goma arábica pela radiação. A observação da existência de dois grupos de radicais na goma arábica após a irradiação está de acordo com o observado por King e Gray (1993).

Figura 4.6. Decaimento temporal das concentrações relativas (C_{REL}) de radicais livres originados da goma arábica por uma irradiação de 3 kGy.

Para determinar a característica espectral dos sinais de RPE em diferentes momentos após a irradiação, foram realizadas simulações utilizando o software SimFonia da Bruker. De acordo com a característica espectral mostrado na figura 4. 5, há dois grupos principais de radicais que sofrem decaimento. Um grupo apresenta-se apenas com tempos curtos após a irradiação, caracterizadas por uma linha mais larga (Radical 1), enquanto que o outro persiste após dez horas (Radical 2)

Figura 4.7. Espectros de RPE simulados. A) Espectro de RPE em 1 hora, 10,3 horas e o espectro resultante da subtração, sugerindo uma interação hiperfina. B) Comparação entre os espectros de RPE: experimental versus simulado: Radical 1, Radical 2 e composição de ambos.

Para caracterizar Radical 1, o espectro de 10,3 horas foi normalizado e subtraído do espectro de 1 hora (Figura 4.7A). O resultado sugere uma interação hiperfina. Os parâmetros Hamiltonianos de spin do Radical 1 determinado por simulação são $g = 2,0046$ e $A = 1,2 \text{ mT}$. A

outra linha (Radical 2) pode ser representada por uma linha com simetria axial e os parâmetros Hamiltonianos de spin: $g_x = g_y = 2,0062$ $g_z = 2,0025$. Este modelo enquadra-se bem com os espectros registrados em tempos diferentes de 1 a 1037 horas. Figura 4.7B mostra os espectros experimental, Radical 1, Radical 2, e o espectro composto (Radical 1 + Radical 2) para $t = 1$ hora. Através do cálculo da cinética dos radicais 1 e 2 obtemos os tempos de meias-vidas de 3,3 e 125,4 horas respectivamente, de acordo com o modelo de duas funções de decaimento exponencial mostrados na figura 4.6. Como mencionado na introdução, goma arábica é um produto natural, que consiste principalmente de polissacarídeos de alta massa molecular. Tipicamente, as estruturas de polissacarídeos são lineares, consistindo de ligeiras modificações da unidade de repetição, que no caso de a goma arábica são arabinose, galactose, ramnose e ácido glucurônico, formando complexas cadeias ramificadas Figura 4.8. Outros dissacáridos irradiados, tais como lactose e dextrose, têm características espectrais (KINOSHITA et al. 2010) semelhantes às da goma arábica irradiada, conferida pelo grupo radical Radical 1.

4.3.3. Composição e Estrutura

A goma arábica é um polissacarídeo natural pertencente à família do complexo arabinogalactana. E sua composição média pode ser observada na Tabela 2.

Figura 4.8. O modelo, “flor acácia”, representa a estrutura ramificada e compacta de goma arábica: Arabinogalactanos são ramificadas em uma proteína esqueleto. A fração polissacarídica é composta de uma cadeia linear de galactose β 1,3 ligados. Esta cadeia é ramificada em posição com 1,6 cadeias de galactose (GAL) e arabinose (ARA). Ramnose (RHA), ácido glucurônico (GLc) ou metil ácido glucorônico (MeGLcA) encontram-se nas terminações da cadeia. (COLLOIDES, 2009).

Tabela 2: Composição Média da Goma Arábica

COMPOSIÇÃO MÉDIA DA GOMA ARÁBICA	
Açúcar composição após a hidrólise	
Galactose	35 - 45 %
Arabinose	25 - 45 %
Ramnose	4 - 13 %
Ácidos glucorônico	6 - 15 %
Peso molecular médio	350 kDa
pH solução a 25%	4.4

Viscosidade Intrínseca	12 ml/g
Conteúdo Proteína	1 - 2 %
Total cinzas (Potássio, cálcio e sais de sódio)	3 - 4%
Arabinogalactana (AG)	89 - 98 %
Arabinogalactoproteína (AGP)	1 - 10%
Glico Proteínas (GP)	Menos de 1%

A Figura 4.9 mostra o efeito de hidratação em goma arábica irradiada. Água Milli-Q foi adicionado à goma irradiada, a qual foi, em seguida, deixada secar à temperatura ambiente. Observe como o espectro de RPE da goma arábica irradiada com 5 kGy, gravado 60 dias após a irradiação, retorna a seu estado inicial antes da irradiação. Assim, observamos que a água permite a recombinação dos radicais livres induzidos pela radiação. Esta é uma descoberta interessante, especialmente para aplicações na indústria alimentar, onde radicais devido à radiação induzidas não estarão presentes após a hidratação.

Figura 4.9. Comparação entre os espectros de RPE irradiado e hidratado e o não irradiado da goma arábica.

Capítulo 5 - Conclusões

Os nossos resultados indicam que a fricção mecânica devido a uma baixa velocidade da broca diamantada no esmalte dos dentes induz centros paramagnéticos com um sinal de artefato que pode sobrepor-se ao sinal dosimétrico. Embora os sinais de artefatos já tenham sido estudados em outros trabalhos, é interessante notar que há uma grande variação na sua forma e intensidades dependendo dos procedimentos empregados, sugerindo que cada grupo de experimentos utilizando dosimetria de RPE em esmalte dentário deve fazer os seus próprios controles do sinal de interferência. A intensidade deste sinal de artefato é semelhante ao sinal induzido por irradiação com uma dose de 500 mGy, indicando, portanto, que esse valor é a dose de detecção limite quando o esmalte é moído por uma broca. Por outro lado, o procedimento manual de moagem do esmalte usando um almofariz de ágata e pilão não produz qualquer artefato no sinal por indução mecânica, mostrando que este método deverá ser o método de escolhido para medir doses inferiores a 500 mGy. Através de uma avaliação global das incertezas envolvidas neste e em processos dosimétricos realizados em nosso laboratório parece que é possível em Banda-K estimar uma dose de 100 mGy com precisão de 25%. Medições em Banda-K têm algumas características interessantes a respeito Dosimetria RPE, como alta resolução espectral e reprodutibilidade, permitindo assim uma melhor distinção entre os radicais cujos sinais podem ser sobrepostos no espectrometro de Banda-X, para não mencionar sua maior sensibilidade e a utilização de uma menor quantidade de massa da amostra.

Na goma arábica foi observada uma relação linear entre a dose absorvida e as intensidades dos espectros de ESR, amplitudes pico a pico e integrais duplas. Os resultados experimentais da

cinética de radicais gerados pela radiação indicaram a existência de pelo menos dois grupos radicais com meia-tempos de 3,3 e 125,4 horas. Isto está de acordo com o modelo proposto desenvolvido por meio de simulações espectrais. Hidratação de goma arábica irradiada leva a uma recombinação de radicais livres induzidos através de sua radiação. Os resultados mostraram que a técnica de RPE pode ser usada como método simples e confiável para detectar irradiações na goma arábica em até 60 dias após sua irradiação com doses iniciais de 5 kGy.

Em resumo pode-se demonstrar duas aplicações da espectroscopia de RPE para a medida de dose depositada por radiação ionizante em duas faixas distintas, baixa e alta dose. A faixa de baixa dose tem interesse médico e epidemiológico para se estudar os efeitos da radiação ionizante e um dosímetro físico, como o aqui descrito, tem uma aplicação importante. Já a faixa de altas doses tem interesse industrial e novamente poder medir a dose no próprio material irradiado, bem como a evolução do sinal é um atributo importante.

Referências Bibliográficas

- ABDEL NOUR H.O.; OSMAN M.E. Management and organization of gum arabic industry in Sudan. In: **Proceedings of the Regional Conference for Africa Held in Kenya**, 6–10 October, 1997.
- ABDEL-FATTAH A. Identification and dose assessment of irradiated cumin by EPR spectrometry. **Appl. Rad. Isot.**, v. 56, 2002. p. 557-562.
- ABREGO F.C.; CALCINA C.S.G.; ALMEIDA A.; ALMEIDA C.E.; BAFFA O. Relative output factor and beam profile measurements of small radiation fields with an L-alanine/K-Band EPR minidosimeter. **Medical Physics** **34**, 2007.p.1573-1582.
- ANDERSON D. M. W.; DE PINTO G. Variations in the composition and properties of the gum exuded by *Acacia karroo* Hayne in different African locations. **Botanical Journal of the Linnean Society**, **80**, 1980. p. 85-89.
- ANDERSON A.W. Irradiation in the processing of food. In: Rose,A.H. (Ed.), **Food Microbiology**. Academic Press, New York, 1983. p.145–171.
- ANDERSON D. M. W.; STODDART, J. F. The use of molecular sieve chromatography in studies on *Acacia senegal* gum. **Carbohydrate Research**, **2**, 1966. p. 104-114.
- ANVISA: **Resolução - RDC nº 21**, de 26 de janeiro de 2001. Regulamento técnico para irradiação de alimentos. 2001.
- ARAGNO D. FATTIBENE P. ONORI S. Dental radiography: tooth enamel EPR dose assessment from Rando phantom measurements. **Phys. Med. Biol.** **45**, 2000. p. 2671-2683.
- ARAGNO D.; FATTIBENE P.; ONORI S. Mechanically induced EPR signals in tooth enamel. **Applied Radiation and Isotopes** **55**. 2001. p. 375e382

- ARÁMBULA V. G.; MAURICIO S. R. A.; FIGUEROA C. J. D.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ J.; ORDORICA F. C. A. Corn Masa and Tortillas from Extruded Instant Corn Flour Containing Hydrocolloids and Lime. **Journal of Food Science**, **64**, 1999. p.120-124.
- ASTM Standard practice for use of the alanine-EPR dosimetry system. **American Society for Testing and Material (ASTM)**, 1997. p.E1607-96. USA, ASTM.
- BHASKAR, S.N. Histologia e embriologia oral de orban [Trad] Nilson Dias Martello. 10^a ed. São Paulo. **Artes Médicas**. 1989.
- CALLENS F.J.; VERBEECK R.M.H.; MATTHYS P. et al. The Contribution of CO_3^{-3} and CO_2^{-} to the ESR Spectrum Near $g=2$ of Powdered Human Enamel. **Calcif. Tissue Int.** v. 41, 1987. p. 124-129.
- CALLENS, F.; VANHAELEWYN, G.; MATTYS, P. Some recent multi-frequency electron paramagnetic resonance results on systems relevant for dosimetry and dating. **Spectrochim. Acta A**, v.58 , n.6, 2002. p.1321-1328.
- CHEN, F.; COVAS, D. T.; BAFFA, O. Dosimetry of blood irradiation using an alanine/ESR dosimeter. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 55, 2001. p. 13-16.
- CHURMS S. C.; MERRIFIELD E. M.; & STEPHEN A. M. Some new aspects of the molecular structure of Acacia senegal gum (Gum arabic). **Carbohydrate Research**, **123**, 1983 .p.267-279.
- COLLOIDES NATURELS INTERNATIONAL, 2009. <http://www.cniworld.com/>.
- COLNAGO L.A.; MARTIN-NETO L.; BISCEGLI C.I.; NASCIMENTO O.R.; BONAGAMBA T.J.; PANEPUCCI H.; VIEIRA E.M.; SEIDEL P.R.; SPOSITO G.; OPELLA S.J. Aplicações da ressonância magnética nuclear (RMN) e ressonância paramagnética eletrônica (EPR). In: Crestana, S.; Cruvinel, P.E.; Mascarenhas, S.; Biscegli, C.I.; Martin-Neto, L.; Colnago, L.A.

Instrumentação agropecuária: contribuições no limiar do novo século. Brasília: **EMBRAPA-SPI**, Cap.1,1996. p.15-50.

DEELEY, C. M. A basic interpretation of the technical language of radiation processing. **Radiation Physics and Chemistry**, **71**, 2004. p. 505-509.

DESROSIERS, M. Current Status of the EPR Method to Detect Irradiated Food. **Appl. Radiat. Isot.** v. 47, n.11/12,1996. p. 1621-1628.

DESROSIERS M. F.; SIMIC M. G.; EICHMILLER F. C.; JOHNSTON A. D.; BOWEN R. L.
Mechanically – induced Generation of Radicals in Tooth Enamel. **Appl. Radiat. Isot.** v. 40, n.10-12, 1989. p.1195-1197.

ELIAS P.S. New Concepts for Assessing the Wholesomeness of Irradiated Foods, Food Technology, Estados Unidos, in **Overview-oustanding, Symposio in Food Science & Technology**, 1989. p.81-83.

FAO/WHO Specifications for identity and purity of certain food additives. Report of a joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). **Food and Nutrition Paper No. 34**, 1986. p. 93-95. Rome, FAO.

FARRAR IV H. Placement of dosimeters and radiation-sensitive indicators. **Radiat. Phys. Chem.** v.46, 1995. p.1353.

FARRAR IV H. Twenty new ISO standards on dosimetry for radiation processing. **Radiat. Phys. Chem.** v. 57, 2000. p.717.

GASID. Gum Arabic Sudanese International Distribution Products. 2005. <http://www.gasid.it/>.

GRUN R.; SCHARWARCZ H.P.; ZYMELA S. Electron Spin Resonance Dating of Tooth Enamel. **Can. J. Earth Sci.** v. 24, 1987. p. 1022-1036.

- GRÜN R. Errors in dose assessment introduced by the use of the “linear part” of a saturating dose response curve. **Radiation Measurements**. v.26(2). 1996. p. 297-302.
- GRUN R. Direct dating of human fossils. **Yearbook of Physical Anthropology**, Vol 49, 2006. p.2-48.
- HAGEN WR. Biomolecular EPR Spectroscopy. CRC; 2008.
- HAYES H.B.; HASKELL E.H.; ROMANYUKHA A.A.; KENNER G.H. Technique for increasing reproducibility in EPR dosimetry of tooth enamel. **Measurements Science and Technology** . v.9. 1008. p.1994-2006;
- IAEA (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY); **Food and enviromental protection. Newsletter**, vol. 1, No. 2. 1998
- IAEA (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY),. Techniques for high dose dosimetry in industry, agriculture and medicine. IAEA TECDOC-1070, Vienna, Austria. 1999.
- IAEA (International Atomic Energy Agency). Use of electron paramagnetic resonance dosimetry with tooth enamel for retrospective dose assessment. IAEA-TECDOC-1331; Vienna. 2002
- IAEA (International Atomic Energy Agency); 2003. Radiation processing for safe, shelf-stable and ready-to-eat food. In: **Proceedings of a final research coordination meeting held in Montreal, Canada**, 10–14 July 2000. IAEA,Vienna, [ISBN:92-0-100703-5](#) Supplement.
- (ICGFI) INTERNATIONAL CONSULTIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION. Code of good irradiation practice for the control of pathogenic microorganisms in poultry feed. Vienna, Austria.1995.
- IKEYA M.; MIKI T. Electron Spin Resonance dating of animal and human bones. **Science** . v.207.1980. p.977-979.

- IKEYA M.; MIYAJIMA J.; OKAJIMA S. ESR dosimetry for atomic bomb survivors using shell buttons and tooth enamel. **Jpn. J. Appl. Phys.** v. 23, 1984. p. 699-701.
- IKEYA M.; BAFFA F.O; MASCARENHAS S. Quality Assessment of Coffee Beans with ESR and Gamma-ray irradiation. **Appl. Rad. Isot.** v. 40, n. 10-12, 1989. p. 1219-1222.
- IKEYA, M. New Applications of ESR: Dating, Dosimetry and Microscopy. **Scientific World**, New Jersey. 1993.
- IKEYA M. Dating and Radiation Dosimetry with Electron Spin Resonance. **Magnetic Resonance Review.** v.13, 1988. p.91-134.
- IKEYA M. Dating a stalagmite with paramagnetic resonance. **Nature**, v.255, 1975. p.48-50.
- IKEYA M; ZIMMERMAN MR; WHITEHEAD N. New applications of electron spin resonance: dating, dosimetry and microscopy. **World Scientific Pub Co Inc**; 1993.
- IKEYA, M. Radiation effects in organics and inorganics for ESR dosimetry. **Elsevier.** 1996. p. 1479-1481.
- ISHII H.; IKEYA M.; OKANO M. ESR Dosimetry of Teeth of Residents Close to Chernobyl Reactor Accident. **J. Nucl. Sci. Techn.** v. 27, 1990. p. 1153-1155.
- ISLAM A. M.; PHILLIPS G. O.; SLJIVO A.; SNOWDEN M. J.; WILLIAMS, P. A. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. **Food Hydrocolloids**, 11, 1997. p.493-505.
- JOSELEAU, J.P.; ULLMANN G. Biochemical evidence for the site of formation of gum arabic in *Acacia senegal*. **Phytochemistry**, 29, 1990. p.3401-3405.
- FAO/WHO Specifications for identity and purity of certain food additives. Report of a joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). **Food and**

- KEOGH M.K., O'KENNEDY B.T. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat. protein and hydrocolloids. **J. Food Sci.** v.63 (1), 1998. p.108–112.
- KING K.; GRAY R. The effect of gamma irradiation 189 on guar gum, locoust bean gum,190 gum tragacanth and gum karaya. **Food Hydrocolloids** 6, 1993. p. 559-569.
- KINOSHITA A. Estudos e Aplicações da Dosimetria por Ressonância do Spin Eletrônico multifrequência utilizando materiais carbonatados. **Tese de Doutorado** Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto. 2002. 103p.
- KINOSHITA A.; MAGNÓLIA FRANCA A.; AUGUSTO COSTA DE ALMEIDA J.; MARIA FIGUEIREDO A.; NICOLUCCI P.; GRAEFF C.O.; BAFFA O. ESR dating at K and X band of northeastern Brazilian megafauna. **Applied Radiation and Isotopes** 62, 2005a. p.225-229.
- KINOSHITA A.; KARMANN I.; WILLIAM DA CRUZ J.F.; GRAEFF C.F.O.; BAFFA O. Kband ESR spectra of calcite stalagmites from southeast and south Brazil. **Applied Radiation and Isotopes** 62, 2005b. p.247-250.
- KINOSHITA A.; JOSÉ F. A.; BAFFA O. An attempt to use sweeteners a material for accident dosimetry. **Health Physics**, 98. 2010. p. 406-411.
- KIRILLOV V.; SHIMANSKAYA O.; TOLSTIK S. Analysis of EPR tooth enamel spectra exposed to combined radiation and mechanical effects. **Radiation Measurements**.42. 2007. p.1185-1189.
- LASSERRE A.; BAJPAI P.K. Ceramic drug-delivery devices. **Critical Reviews in Therapeutic Drugs Carrier Systems**. V. 15:(1). 1998. p.1-56.

- MANJUBALA I.; SIVAKUMAR M.; SURESHKUMAR R.V.; SASTRY T.P. Bioactivity and osseointegration study of calcium phosphate ceramic of different chemical composition. **Journal of Biomedical Materials Research**. V.63:(2). 2002. p. 200-208.
- MASCARENHAS S.; HASEGAWA A.; TAKESHITA K. EPR Dosimetry of bones from the Hiroshima A-Bomb Site. **Bull. Am. Phys. Soc.**, v.18, 1973. p.579.
- MASCARENHAS S.; BAFFA O.; IKEYA M. Electron Spin Resonance Dating of Human Bones from Brazilian Shell-Mounds (Sambaquis). **Am. J. Phys. Anthropol.**, v.59, n.4. 1982. p.413-417.
- MBUNA J.J., MHINZI G.S. Evaluation of gum exudates from three selected plant species from Tanzania for food and pharmaceutical applications. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, V.83, 2003. p.142–146.
- MCLAUGHLIN, W. L.; DESROSIERS, M. F. Dosimetry systems for radiation processing. **Radiation Physics and Chemistry**, 46, 1995. p.1163-1174.
- MEHTA K. High-dose standardization service of the IAEA. **Applied Radiation and Isotopes**, 47, 1996.p. 1155-1159.
- MIYAGUSKU L.; CHEN F.; KUAYE A.; CASTILHO C. J. C.; BAFFA O. Irradiation dose control of chicken meat processing with alanine/ESR dosimetric system. **Radiation Measurements**. v. 42, 2007. p.1222– 1226
- MJOR I. A., FEJERSKOV G. Embriologia e histologia oral humana. 1^a ed. São Paulo. **Medicina Panamericana**. 1990.
- NAKAMURA N.; MIYAZAWA C.; SAWADA S.; AKIYAMA M.; AWA A. A. A close correlation between electron spin resonance (ESR) dosimetry from tooth enamel and cytogenetic dosimetry from lymphocytes of Hiroshima atomic-bomb survivors. **Int. J. Radiat. Biol.**, v.73, n.6,1998. p.619-627.

- OSMAN M. E.; WILLIAMS P. A.; MENZIES A. R.; PHILLIPS G.O. Characterization of commercial samples of gum arabic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **41**, 1993. p.71-77.
- PARAMITA V.; IIDA K.; YOSHII H.; FURUTA T. Effect of Feed Liquid Temperature on the Structural Morphologies of d-Limonene Microencapsulated Powder and Its Preservation. **Journal of Food Science**, **75**, 2010. p.E39-E45.
- POLYAKOV V.; HASKELL E.; KENNER G.; HUETT G.; HAYES R. Effect of Mecanically induced Background Signal on EPR Dosimetry of Tooth Enamel. **Radiat. Meas.**, v.24, n.3, 1995. p.249-254.
- RAFFI J.J; AGNEL, J.P.L. Electron Spin Resonance Identification of Irradiated Fruits. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 34, n. 6,1989. p. 891-894.
- REGULLA D.F.; DEFFNER U. Dosimetry By electron-spin-resonance Spectroscopy of alanine. **International Journal of Applied Radiation and Isotopes**. v.33 (11), 1982. p.1101.
- RIGHETTO A. M.; NETTO F. M. Vitamin C stability in encapsulated green West Indian cherry juice and in encapsulated synthetic ascorbic acid. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 86, 2006. p.1202-1208.
- RODRIGUES JR. A.A. Vidro comercial como detector e medidor de Radiação num irradiador de grande porte. **Dissertação de Mestrado**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, CNEN, São Paulo, 2000. 92p.
- ROMANYUKHA A. A.; DESROSIERS M.F.; REGULLA D. F. Current issues on EPR dose reconstruction in tooth enamel. **Appl. Radiat. Isot.** v.47, n.11/12, 1996. p.1293-1297.
- ROMANYUKHA A. A.; IGNATIEV E. A.; DEGTEVA M. O.; KOZHEUROV, V. P.; WIESER, A.; JACOB, P. Radiation doses from Ural region. **Nature**, v.381, 1996b. p.199-200.

- ROMANYUKHA A. A.; REGULLA D. F. Aspects of Retrospective ESR Dosimetry Appl. **Radiat. Isot.** v.47, n.11/12, 1996c. p.1293-1297.
- ROMANYUKHA A. A.; IGNATIEV E. A.; VASILENKO E. K.; DROZHKO E. G.; WIESER A.; JACOB P.; KERIIM-MARKUS I. B.; KLESCHENKO E. D.; NAKAMURA N.; MIYAZAWA, C. EPR dose reconstruction for Russian nuclear workers. **Health Phys.** v.78, 2000. p.15-20.
- ROMANYUKHA A. A.; SCHAUER D.A. EPR dose reconstruction in teeth: Fundamentals, applications, problems and perspectives. In: EPR in the 21st Century. Proceedings of the 3rdAsia Pacific EPR/ESR Symposium, Kobe, (Asako Kawamori, Jun Yamauchi, Hitoshi Ohta, Eds.). **Elsevier Science**, 2001. p. 603-612.
- ROMANYUKHA A.A.; MITCHELL C. A.; SCHAUER D. A. Q-band EPR biodosimetry in tooth enamel microsamples: Feasibility test and comparison with X-band. **Health Physics.** v. 93, 2007. p. 631-635.
- ROSS R.T.; ENGELJOHN D. Food irradiation in the United States: irradiation as a phytosanitary treatment for fresh fruits and vegetables and for the control of microorganisms in meat and poultry. **Radiat. Phys. Chem.** v.57, 2000. p.211.
- SHARPE P.H.G.; RAJENDRAN K.; SEPHTON J.P. Progress Towards an Alanine/ESR Therapy Level Reference Dosimetry Service at NPL, **Appl. Radiation Isot.** v. 47, n⁰. 11/12, 1996. p. 1171-1175.
- SCHRAMM D. U.; ROSSI A. M. Electron spin resonance (ESR) studies of CO₂⁻ radicals in irradiated A and B-type carbonate-containing apatites. **Appl. Rad. Isot.** v.52, 2000. p.1085-1091.
- SCHREIBER G.A.; HELLE N.; BÖGL K.W. Detection of irradiated food methods and routine applications. **Int. J. Radiat. Biol.** v. 6, n. 1, 1993. p.105-130.

- SKVORTSOV V. G.; IVANNIKOV A. I. ; STEPANENKO V. F. ; TSYB A. F.; KHAMIDOVA L. G.; KONDRASHOV A. E.; TIKUNOV D. D. Application of EPR retrospective dosimetry for large-scale accidental situation. **Appl. Rad. Isot.** v.52, 2000. p.1275-1282.
- STOLL S.; SCHWEIGER A. EasySpin a comprehensive software package for spectral simulation and analysis in EPR. **Journal of Magnetic Resonance.** 2006. p. 42-55.
- STOLL S, SCHWEIGER A. EasySpin: Simulating cw ESR spectra, **Biol. Magn Reson.** **27.** 2007. p.299–321.
- STOLL S; BRITT R.D. General and efficient simulation of pulse EPR spectra. **Physical Chemistry Chemical Physics.****11(31).** 2009a. p.6614–6625.
- STOLL S. EasySpin; 2009b. Available from: <http://www.easyspin.org/>.
- STREET, C. A.; ANDERSON D. M. W. Refinement of structures previously proposed for gum arabic and other Acacia gum exudates. **Talanta**, **30**, 1983. p. 887-893.
- SWARTZ; BOLTON J. R.; BORG. Biological Applications of Electron Spin Resonance. 1972. p.1-39.
- TOYODA S.; TANIZAWA H.; ROMANYUKHA A. A.; MIYAZAWA C.; HOSHI M.; UEDA Y.; NITTA Y. Gamma-ray dose response of ESR signals in tooth enamel of cows and mice in comparison with human teeth. **Radiat Meas** v.37, 2003. p.341-346.
- VANHAELEWYN G.; AMIRA S.; DEBUYST R.; CALLENS F.; GLORIEUX T.; LELOUP G.; THIERENS H. A critical discussion of the 2nd intercomparison on electron paramagnetic resonance dosimetry with tooth enamel. **Radiat. Measurements.** v.33, 2001. p.417 –426.
- ZAIED S.F.; YOUSSEF B.M.; DESOUKY O.; EL DIEN M. S. Decontamination of gum arabic with γ -rays or electron beams and effects of these treatments on the material. **Applied Radiation and Isotopes.** v.65, 2007. p.26-31.

WEBER R. Win-EPR-Simfonia. EPR Division, BRUKER Instruments Inc, Version.1. 1995.

WEIL J. A.; BOLTON J. R.; WERTZ J. E. Electron Paramagnetic Resonance
Elementary Theory and Practical Applications 1994. p.1-7.

WERTS J.E; BOLTON J.R. Electron spin resonance: elementary theory and practical applications.
MCGraw-Hill, Nova York.1972

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION) Technical Report Serial, No. 659. World Health
Organization, Geneva.1981.

Apêndice A

Apêndice

A.1. Rotinas utilizadas para o Programa de simulação do espectros

```
%-----
Entrada de Dados Experimentais
%-----
    clf, clear
% Carrega o espectro experimental
A=load('C:\Users\Sergio\Desktop\jorge0Gy.dat');
x=A(:,1);
exper=A(:,2);
% Corrige a linha de base
y = basecorr(exper,1,1);
%y=exper;
Sys.S=[1/2];Sys1.S=[1/2];
% Frequencia a ser sincronizada
Exp.mwFreq=9.4448;
% Varredura
Exp.Range=[331.55, 341.55];
%-----
% Sistema 1 [Axial]
% Intensidade do 1º sinal
a=0.05;
% fator g
Sys.g=[2.0025 1.9973];
% largura de linha: componentes gaussiana e lorentziana respectivamente
Sys.lwpp=[0.05 0.089];
%-----
% Sistema 2 [Isotrópico]
% Intensidade do 2º sinal
b=0.15;
% fator g
```

```

Sys1.g=[2.0045];
% largura de linha: componente gaussiana e lorentziana respectivamente
Sys1.lwpp=[0.82 0.0];
%-----
% Componente 1
% Gera sinal de ESR com intensidade %normalizada
[B,Y]=Pepper(Sys,Exp); Y=a*Y/(max(Y));
%Componente 2
% Gera sinal de ESR com intensidade %normalizada
Y2=Pepper(Sys1,Exp); Y2=b*Y2/max(Y2);
% Gera sinal de ESR com intensidade %normalizada
% Simulado
spc=Y+Y2-0.025;
plot(B,spc,x,y);
plot (B, spc, 'k',x,y,B,Y,B,Y2);
legend('Simulado','Experimental','Axial','Isotrópico');
axis tight
spc=spc'; Y=Y'; y=y'; B=B'; Y2=Y2';
%Save jorgelGy.dat -ascii table

```